

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

ÉTUDE SUR LA VARIABILITÉ DU BACILLE ROUGE DE KIEL¹,

PAR EM. LAURENT.

A plusieurs reprises, il a été question dans ces *Annales* des variations durables que peuvent présenter les propriétés physiologiques des Bactéries. Je n'en ferai donc pas l'histoire, et je me borne à rappeler que ces variations portent tantôt sur la virulence ou l'aptitude à donner des spores, tantôt sur la production de matières colorantes ou d'autres substances faciles à caractériser.

Une sélection méthodique, secondée par l'influence de milieux de culture appropriés, permet d'obtenir des races nouvelles parmi les organismes inférieurs, d'une manière analogue à celle que mettent en œuvre les horticulteurs pour modifier certaines catégories de plantes cultivées. Beaucoup de microbes sont, en outre, particulièrement sensibles aux agents extérieurs; leurs propriétés se transforment plus ou moins rapidement lorsqu'on soumet leurs cellules à l'action prolongée de l'oxygène, à l'influence de substances nuisibles ou antiseptiques, ou encore à des températures assez élevées.

1. Travail fait au laboratoire de chimie biologique de la Sorbonne.

Peut-on cependant affirmer que, dans la nature, il puisse se faire une sélection aussi méthodique et aussi certaine? Certes, l'action de l'oxygène est presque universelle, mais il s'en faut de beaucoup qu'il en soit de même pour les substances antiseptiques et les températures favorables à la production de variétés nouvelles dans le monde des microbes. Les adversaires de la variabilité de ces organismes peuvent donc arguer que les modifications observées dans les laboratoires ne sont dues qu'à des circonstances exceptionnelles, et que, à l'état naturel, les types se maintiennent sans présenter de variations bien sensibles.

Cette objection m'a conduit à rechercher si d'autres influences naturelles, auxquelles les germes sont normalement exposés, ne pourraient pas provoquer des changements rapides et durables dans les propriétés des Bactéries. Parmi les tentatives que j'ai faites, c'est la lumière qui m'a donné les résultats les plus concluants. Ce n'est pas la première fois que la radiation solaire est utilisée pour modifier les propriétés de ces microbes. D'après M. Arloing ¹, les filaments du bacille du charbon, exposés au soleil et à l'air, perdent peu à peu leur virulence : les bacilles issus de la culture insolée ne tuent plus les cobayes, et leur confèrent parfois l'immunité.

De toutes les espèces que j'ai exposées au soleil, c'est le bacille rouge de Kiel qui m'a donné les résultats les plus remarquables. Parmi les bactéries chromogènes, le *Micrococcus aurantiacus* n'est pas décoloré ni affaibli par plusieurs heures d'insolation très vive; le *Micrococcus prodigiosus* est rapidement décoloré, mais la modification ne se transmet que très imparfaitement dans les cultures successives.

Mes expériences ont été faites en déposant quelques parcelles de colonie adulte de *M. prodigiosus* à la surface d'une tranche de pomme de terre stérilisée et renfermée dans un tube incliné, que je plaçais dans une direction perpendiculaire à celle des rayons solaires. Dans ces conditions, le pigment est détruit après deux ou trois heures d'insolation, mais les germes restent vivants.

Ensemencés sur tranche de pomme de terre, ils donnent des colonies qui présentent, il est vrai, toutes les teintes entre le blanc pur et le rouge vif. Mais les colonies incolores et celles

1. Archives de physiologie, 1886, p. 232.

qui sont rose pâle donnent sans exception des colonies rouge vif, dès le deuxième ou le troisième passage sur pomme de terre. La modification subie n'est donc pas héréditaire.

Si l'on prolonge l'insolation jusqu'à une durée de cinq heures à un soleil ardent, toutes les cellules du *M. prodigiosus* sont tuées sans exception; elles ne se développent plus dans les milieux les plus favorables au rajeunissement. La décoloration provoquée par la radiation solaire chez le *M. prodigiosus* n'est donc que passagère.

Il en est tout autrement du bacille rouge de Kiel : bien que sa coloration résiste mieux que celle du *M. prodigiosus* à la lumière solaire, les descendants des germes insolés ont une tendance nettement accusée à rester incolores.

Cette intéressante bactérie a été trouvée dans les eaux de la ville de Kiel par M. J. Breunig, qui l'a décrite dans sa thèse de doctorat ¹. A l'œil nu, il n'est guère possible de distinguer les cultures du bacille rouge sur milieux solides de celles du *Micrococcus prodigiosus*. La teinte est à très peu de chose près la même, et il faut une très grande habitude pour ne pas s'y tromper. Il en est tout autrement au microscope. Tandis que, sur pomme de terre, le *M. prodigiosus* est légèrement ovoïde et a environ un μ , dans son plus grand diamètre, le bacille rouge est un bacille bien caractérisé, quels que soient les milieux sur lesquels il a été cultivé.

Comme l'histoire biologique du bacille rouge n'a pas encore été faite, j'ai profité de mes études sur la variabilité de cet organisme pour faire un certain nombre d'observations relatives à cette espèce. J'en donne ici le résumé, autant pour l'intelligence de ce travail que pour l'intérêt que présentent quelques particularités de l'histoire de ce microbe.

I

CARACTÈRES DES CULTURES DU BACILLE ROUGE.

Dans une culture récente sur pomme de terre, le bacille rouge a une longueur qui varie entre 2,5 et 5 μ , et une largeur

1. *Bacteriologische Untersuchung Trinkwassers der Stadt Kiel*, Kiel, 1888.

de 0,7 à 0,8 μ . Ces dimensions ne sont guère modifiées par la culture dans le lait ou le bouillon. Cependant, dans les cultures anciennes sur pomme de terre, on trouve des bacilles qui peuvent atteindre 8 et 10 μ .

Quatre ou cinq heures après l'ensemencement sur pomme de terre, à la température de 35°, les bâtonnets sont mobiles, sans être cependant très agiles; le mouvement dépend de la présence de l'oxygène, et il cesse dès que ce gaz fait défaut dans la préparation.

Cultivé à la température de 18-20° sur bouillon gélatinisé, le bacille rouge donne dans la profondeur des colonies ovales, à contour entier ou sinueux, d'un jaune pâle au microscope, blanches à l'œil nu. Les colonies superficielles sont colorées en rouge sang, s'étalent largement, et leur contour devient sinueux; elles sont entourées d'une zone claire et, dès le cinquième jour, liquéfient lentement la gélatine. Après six ou sept jours, les colonies les plus voisines de la surface deviennent légèrement roses; plus profondément, elles restent incolores par suite de la privation d'oxygène à l'état libre.

En tube de gélatine légèrement alcaline, le bacille rouge donne une trace profonde et bien marquée; la gélatine ne tarde pas à se liquéfier vers la surface, et le liquide ainsi formé est vivement coloré. Dans la profondeur du tube, il se produit souvent des bulles gazeuses.

Sur gélose à 30-35°, le bacille est d'abord rose pâle et passe ensuite à la teinte rouge brique.

Cultivé sur pomme de terre à 30-35°, le bacille se développe très rapidement, et recouvre toute la tranche, après vingt-quatre heures, d'une grande colonie d'un rouge pourpre violacé. Il en est parfois de même à des températures inférieures à 25°, surtout lorsqu'on a des races vigoureuses. Le plus souvent, les colonies formées sur pomme de terre à ces températures sont d'un rouge moins foncé, qui, d'abord orangé, devient ensuite rouge carmin. Toutefois, cette coloration est presque toujours localisée à la surface de la colonie et, dans la profondeur, elle fait place à la teinte violacée. J'aurai l'occasion d'expliquer ces variations de coloration produites sous l'influence de la température.

La matière colorante du bacille rouge est peu soluble dans la benzine, plus soluble dans l'eau et surtout dans les alcools

méthylque et éthylique. Elle est insoluble dans l'essence de térébenthine, l'éther de pétrole, l'alcool amylique, le chloroforme, le sulfure de carbone. L'éther sulfurique décolore la substance rouge, mais cette action cesse dès que l'on ajoute au mélange quelques gouttes d'acide chlorhydrique.

A petite dose, les acides, même les plus énergiques, comme l'acide sulfurique, avivent la coloration rouge. Au contraire, elle disparaît sous l'action des alcalis (soude, potasse, ammoniacque), mais elle réapparaît ensuite par l'addition des acides.

Les solutions dans les alcools méthylque et éthylique, évaporées lentement, laissent des corpuscules arrondis d'un rouge sang. Il m'a été impossible d'obtenir des combinaisons cristallisables de la substance chromogène.

Toutes ces propriétés appartiennent également au pigment du *M. prodigiosus*.

Dans le bouillon de veau neutre, le bacille rouge trouble fortement le liquide après vingt-quatre heures, et le colore en rose pâle. Cependant, on peut obtenir des cultures liquides qui présentent une coloration rouge magnifique. Je préciserai plus loin les conditions nécessaires pour arriver à ce résultat.

Le bacille rouge se développe admirablement dans les solutions minérales nutritives additionnées d'une substance organique assimilable. J'ai de préférence employé le mélange suivant, qui m'a déjà servi à des études sur la Levure :

Eau	1,000 cc.
Phosphate de potassium	0,75 gr.
Sulfate de magnésium	0,10
— d'ammoniaque	5,00

Les corps organiques les plus variés conviennent à l'alimentation du bacille rouge. Tels sont : albumine de l'œuf et du sang, peptone, caséine, fibrine du sang, asparagine, leucine, saccharose, maltose, lactose, dextrose et sucre interverti, mannite, gomme arabique, salicine, glycérine, succinate, citrate, et tartrate d'ammoniaque, lactate de calcium et même les acétates. Les oxalates et les formiates ne sont pas assimilés.

Lorsque l'on ne prend pas de précautions spéciales, la matière rouge n'apparaît pas dans tous les milieux artificiels formés avec ces différentes substances organiques. Je l'ai observée dans les cultures ordinaires avec les albumines, la peptone, la

caséine, le succinate d'ammoniaque, et surtout avec le lactate de calcium. La réaction n'avait pas cessé d'être alcaline, ou tout au moins neutre. Dans tous les autres mélanges nutritifs, qui étaient demeurés incolores, j'ai constaté une réaction très nettement acide. C'est la substance acide, produite surtout dans les solutions hydrocarbonées, qui a empêché la formation du pigment. Si l'on retarde la croissance du microbe, ce qui a pour effet immédiat de diminuer l'acidité du liquide de culture pendant les premiers jours, la coloration rouge peut devenir visible dans les solutions sucrées. Elle est beaucoup plus accusée si l'on alcalinise le mélange nourricier, ou lorsqu'on y ajoute une petite quantité de carbonate de chaux. Les cultures dans le mélange minéral additionné de saccharose, de maltose, de dextrose, de glycérine, etc., deviennent alors d'un rouge très marqué.

Enfin, dans le lait, à la température de 35°, il y a coagulation au bout de vingt-quatre heures, et il ne se produit pas la moindre trace de coloration rouge. Au contraire, à la température ordinaire, la coagulation se fait longtemps attendre, et la surface du liquide devient rouge sang comme à la suite d'un ensemencement de *M. prodigiosus*. La matière rouge se répand graduellement dans la profondeur du liquide.

La coagulation du lait n'est pas due à une sécrétion de présure, mais résulte de l'influence de l'acide produit par le microbe aux dépens de la lactose. En effet, le lait additionné de carbonate de chaux ne se coagule pas, bien que le bacille y végète à merveille, et du lait qu'il a rendu acide, neutralisé avec la soude, n'a pas non plus d'action sur la caséine.

J'établirai bientôt la cause pour laquelle la matière rouge ne se développe pas dans le lait à la température de 30-35°. Je tiens cependant à faire remarquer que la culture du bacille rouge à cette température a une certaine influence sur la fonction chromogène de cet organisme : ainsi le bacille, qui avait vécu dans ces conditions, donne sur pomme de terre, à 30°, des colonies qui sont d'abord blanches ; ce n'est qu'au troisième jour que j'ai vu apparaître de nouvelles colonies légèrement teintées de rose. Une deuxième culture, à 30°, des colonies incolores, prend, dès le début du développement, la coloration rouge normale. A la température de 18-20°, les colonies de la race cultivée dans le lait à 30° sont rouges dès le premier jour.

L'exemple de la culture dans le lait nous permet de prévoir que la fonction chromogène du bacille rouge peut être influencée par la présence d'un acide organique, et par l'action d'une température assez élevée. Nous allons voir qu'il peut encore exister d'autres causes de variations.

II

INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE ET DE L'OXYGÈNE SUR LA FONCTION CHROMOGÈNE DU BACILLE ROUGE.

Le bacille rouge ne croît presque pas à des températures inférieures à 10°, et ne se développe plus à 42° ; l'optimum de température est compris entre 30 et 35°. A partir de 36°, il souffre et donne des colonies incolores, qui redeviennent colorées lorsqu'on les cultive à des températures plus basses. Dès la première génération, la matière rouge fait sa réapparition. Même des cultures faites à 39°, 5, et que j'avais maintenues pendant 4 jours à cette température, sont devenues roses après quelque temps de séjour à 15°, et à la suite d'une croissance nouvelle.

L'action de l'air n'est pas indispensable à la croissance du bacille rouge. Sans être doué de propriétés anaérobies très accusées, il se développe dans le vide, mais n'y est jamais coloré, de même que les autres bactéries chromogènes.

La privation d'oxygène paraît exercer une certaine influence sur la race. J'ai préparé trois tubes à essais, dont chacun contenait un petit fragment de pomme de terre. Après y avoirensemencé une très petite parcelle de colonie rouge, j'ai fait le vide dans l'un des trois tubes, introduit de l'hydrogène dans le deuxième, et de l'acide carbonique dans le troisième. L'air renfermé dans les parties profondes de la pomme de terre est difficile à enlever ; donc il était resté une très petite quantité d'oxygène dans les tubes, malgré le temps assez long que j'avais consacré à chasser l'air avec de l'hydrogène. Aussi, quelques colonies rouges prirent naissance dans les trois cultures placées à 30° ; la croissance s'arrêta bientôt faute d'oxygène, mais lorsque j'eus fait pénétrer de l'air dans les tubes, ces colonies rouges produisirent de nouvelles colonies vigoureuses et *tout à fait incolores*. Il y a plus.

Les colonies nées dans le tube qui avait été rempli d'acide carbonique, ensemencées en série sur des tranches de pommes de terre, ont donné, à la température de 30°, des cultures incolores pendant deux générations. A 15-20°, le retour de la coloration fut immédiat.

Les colonies formées dans l'hydrogène et dans le vide ont fourni à 30° des cultures légèrement roses au premier passage et rouges par la suite.

III

INFLUENCE DE LA RÉACTION DU MILIEU SUR LA FONCTION CHROMOGÈNE DU BACILLE ROUGE.

La coloration du bacille rouge est influencée d'une manière assez curieuse par les acides. On en a la preuve lorsqu'on le cultive comparativement dans du bouillon neutre, dans du bouillon additionné de 1 0/00 d'acide tartrique, et dans le même liquide avec 1 0/00 de soude. La croissance est sensiblement la même dans le bouillon neutre et dans celui qui est alcalin. Celui-ci se colore en rouge assez vif et celui-là en rouge beaucoup plus pâle. Si l'on examine la réaction avec le papier de tournesol, on voit que le bouillon neutre est devenu acide, tandis que, après vingt-quatre heures à 20°, l'autre est encore légèrement alcalin.

Dans le liquide acide, la croissance est extrêmement lente, et il n'y a aucune trace de coloration.

La conclusion à tirer de ce premier essai, c'est qu'un certain degré d'acidité nuit à la croissance du bacille rouge et l'empêche de produire son pigment.

Pour que cette vérité soit encore plus évidente, j'ai eu recours à la culture dans des solutions de saccharose très pure, additionnées de sels minéraux. Dans six larges matras à fond plat, j'introduis 100 centimètres cubes du mélange minéral indiqué plus haut, plus 2 0/0 de saccharose. Deux de ces matras sont neutres, deux alcalinisés avec 1 0/00 de soude ; les deux autres sont additionnés de 1 0/00 d'acide tartrique. Tous sont ensemencés avec deux races de bacille rouge, que j'indiquerai par les lettres A et B ; ces races avaient la même origine, mais différaient

légèrement l'une de l'autre par suite de cultures antérieures dans des milieux différents. Après vingt-quatre heures de séjour à 20°, seuls les matras à réaction neutre sont légèrement colorés, surtout celui qui avait étéensemencé avec la race A. A la fin du deuxième jour, l'état des cultures est encore plus frappant. Dans le mélange alcalin, le bacille A est rouge vif, et le bacille B est rouge très pâle; la coloration de ce dernier devient plus accentuée les jours suivants.

Dans le mélange primitivement neutre, les deux bacilles sont demeurés rouge pâle; par la suite, ils ne sont jamais aussi colorés que les deux cultures faites en milieu alcalin.

Quant aux cultures acides, elles sont restées vierges de tout développement.

J'ai dosé l'acidité de trois des matras fertiles. Les deux matras neutres au début de l'expérience avaient, après quarante-huit heures, une acidité équivalente à celle de 5,9 0/00 d'acide tartrique. Dans la solution alcalinisée etensemencée avec le bacille B, l'acidité, après le même laps de temps, correspondait seulement à 3,5 0/00 d'acide tartrique. Elle a augmenté les jours suivants concurremment avec l'intensité de la coloration, et a atteint 5,9 0/00 à la fin du troisième jour.

Une autre expérience a été entreprise afin de déterminer l'influence de la température sur la production de la matière acide et sur le pigment. J'ai mis en culture avec le bacille A deux matras contenant chacun 100 centimètres cubes du mélange salin, et 1^{er},9 de saccharose (quantité correspondant à 2 grammes de sucre interverti). La réaction était bien neutre après stérilisation. Un matras fut placé à 33°, l'autre à 20°.

Vingt-quatre heures plus tard, le matras mis à 20° présente une légère coloration rose; son acidité équivaut à 3,9 0/00 d'acide tartrique, et la solution contient 0^{gr},95 de sucre interverti sans trace de saccharose. La culture à 33° n'est nullement colorée; son acidité correspond à 4,6 0/00; elle renferme 0^{gr},46 de sucre interverti.

Après quarante-huit heures (à partir du début de l'expérience), le matras à 20° est rouge vif; l'acidité est de 4,8 0/00 et la quantité de sucre de 0^{gr},8. Le matras à 33° est toujours incolore; son acidité est 5,9 0/00 et il renferme 0^{gr},4 de sucre.

Dans un dernier essai, j'ai mis deux matras avec la même

solution que dans l'expérience précédente, mais j'y ajoutais une certaine quantité de carbonate de chaux. L'un fut placé à 20°, l'autre à 33°. Tous les deux se sont colorés en rouge d'autant plus rapidement que la température était plus favorable à la croissance. La coloration n'était cependant pas aussi vive que dans un matras mis à 20° et dans lequel il n'y avait pas de calcaire pour neutraliser l'acidité. Mais une goutte d'acide chlorhydrique, ajoutée à quelques centimètres cubes du liquide de culture avec calcaire, avivait aussitôt la coloration et lui donnait une belle teinte fleur de pêcher.

On peut résumer ces diverses expériences sur le rôle des acides vis-à-vis du bacille rouge, de la manière suivante :

1° Le bacille rouge ne se développe pas dans un liquide de culture artificiel additionné de 1 0/00 d'acide tartrique;

2° Il rend acide le milieu de culture; lorsque l'acidité ainsi produite correspond à 5,9 0/00 d'acide tartrique, le microbe cesse de se multiplier;

3° L'acidité gêne également la formation du pigment à une concentration plus faible que celle qui arrête la croissance (4,6 0/00); mais elle augmente l'intensité de la coloration du pigment produit dans un liquide alcalin, neutre ou peu acide.

J'ai, à la page 470, attiré l'attention sur ce fait, en apparence inexplicable, que le laitensemencé avec le bacille rouge est incolore à 30-35°, et se colore en rouge à la température ordinaire. La cause en est très simple. Aux températures voisines de l'optimum, la multiplication des bâtonnets est très active, et par suite la production d'acide est très abondante au point d'empêcher la formation du pigment. A la température ordinaire, l'augmentation d'acidité est beaucoup plus lente et ne contrarie pas le développement de la substance chromogène.

L'influence des acides sur le bacille rouge nous explique aussi pourquoi il reste incolore dans les liquides additionnés de sucres, de mannite, de glycérine ou d'autres corps qui favorisent la production de l'acide particulier à ce microbe.

Wasserzug¹, qui avait observé la même influence des sucres sur le *Bacillus pyocyaneus*, le *M. prodigiosus* et d'autres espèces, croyait à l'action directe des sucres sur le pouvoir chromogène

1. Annales de l'Institut Pasteur, t. I, p. 587, 1887.

de ces bactéries. Le même auteur avait vérifié cette observation faite par M. Hueppe ¹, que le *Bacillus cyanogenus* (du lait bleu), devenu incolore dans les liquides à la suite de cultures sur les milieux solides, redevient coloré par des cultures successives dans des liquides d'acidité progressivement croissante. A la suite de ces observations, on était porté à admettre que l'acidité est toujours favorable à la production du pigment par les bactéries chromogènes. Les faits relatifs à la coloration du bacille rouge montrent que cette opinion n'est pas complètement exacte. Il convient de distinguer au sujet des acides : 1° leur action sur la végétation des bactéries chromogènes et indirectement sur la coloration des cultures ; 2° l'action directe des acides sur la production de la matière colorante ; 3° l'action de l'acide sur l'intensité du pigment déjà formé. Enfin, il y a une quatrième action dont il convient de tenir compte : c'est l'influence des acides sur le pouvoir chromogène, influence qui avait été signalée par M. Hueppe et Wasserzug.

Chez le bacille rouge, on peut aussi obtenir des races qui sont colorées dans les liquides légèrement acides. Il suffit de débiter par des cultures dans du bouillon avec 1 pour 10000 d'acide tartrique, et de passer ensuite dans des bouillons à 1/5000, 1/2500 et même 1/1000 du même acide. Le bouillon devient alors très vivement coloré. Ceci nous prouve une fois de plus l'importance qu'il faut attacher à l'éducation donnée à une race de microbes par une suite de cultures faites dans des conditions particulières.

IV

INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE ET DE L'ACIDE CARBONIQUE SUR LA FONCTION CHROMOGÈNE DU BACILLE ROUGE.

J'ai indiqué précédemment la différence que présentent à 25-35° et à 10-25° les cultures du bacille rouge sur pomme de terre. Il en est de même des cultures sur gélose, avec cette légère différence qu'elles sont, à 30-35°, d'abord rose pâle, et ensuite rouge brique.

1. Hueppe, *Arbeit. a. d. Kais. Gesund.*, t. II, p. 353, 1884.

Sur pomme de terre, à une température voisine de l'optimum, les colonies sont d'un rouge pourpre violacé, qui rappelle la couleur du sang veineux. A la température ordinaire, les colonies sont le plus souvent d'un rouge orangé qui devient plus tard rouge carmin.

Quelle est la cause qui détermine cette variation? Est-ce une question de race, ou bien n'est-ce qu'un effet dû aux conditions de culture? Jusqu'à un certain point, on peut dire qu'il y a ici intervention des phénomènes d'hérédité, en ce sens que l'on peut exalter la différence de coloration par des cultures successives à la température ordinaire. Mais ils sont dominés par d'autres influences, et voici ce qui le prouve jusqu'à l'évidence. Une culture du bacille rouge est faite à 35°; après quarante-huit heures, elle est rouge violacé, et je la mets à 18°. Vingt-quatre heures plus tard, elle est devenue rouge carmin à la surface de ses colonies. Replacée à 35°, elle est de nouveau rouge violacé après un jour, et redevient encore rouge carmin à 18° vingt-quatre heures plus tard. Enfin, un cinquième et dernier changement modifie la coloration d'une partie des colonies dans les vingt-quatre heures suivantes. Au bout de cinq jours, toutes étaient redevenues rouge violacé.

Il importe de remarquer que ces changements de teinte provoqués par la température n'intéressent que la couche superficielle des colonies. Les couches profondes restent rouge violacé; au début de la culture, elles sont parfois plus claires, mais ne tardent pas à devenir plus foncées.

Aussi longtemps que la culture n'est pas trop âgée, sa coloration est sensible à l'influence de la température.

Au lieu de placer les cultures colorées en rouge carmin à l'étuve à 35° pour leur donner la teinte violacée, on peut arriver au même résultat par l'exposition à un soleil modéré pendant cinq ou six heures. Cette observation m'avait fait supposer que les changements de coloration du bacille rouge étaient d'ordre chimique. De prime abord, j'avais cru qu'il y avait oxydation d'une matière associée au pigment, et que, par suite de cette action, celui-ci devenait plus foncé.

Le mécanisme qui intervient dans cette circonstance est beaucoup plus simple.

A l'intérieur de tubes avec tranches de pomme de terre

recouvertes de colonies rouge violacé du bacille de Kiel, j'ai introduit de l'acide carbonique. Les colonies ont conservé leur teinte à 18-20°, sans jamais présenter le moindre îlot rouge carmin. Au contraire, les colonies rouge carmin des cultures sur pomme de terre et sur gélose faites à 18-20°, deviennent, dans l'acide carbonique, d'un rouge violacé très foncé après dix à quinze heures de séjour à 30-33°. La coloration est beaucoup plus intense que dans les cultures au sein de l'air faites à la même température.

Ni l'hydrogène, ni le vide n'exercent la même influence que l'acide carbonique sur la matière colorante du bacille rouge. C'est donc ce dernier gaz qui lui donne la coloration violacée. Peut-être, y a-t-il intervention d'une substance particulière, mais il est tout aussi admissible que c'est la matière colorante elle-même qui se combine avec l'anhydride carbonique. Dans cette dernière hypothèse, on ne pourrait mieux comparer le rôle de ce gaz qu'à celui de l'oxygène sur l'hémoglobine du sang, avec cette différence que, dans le sang, c'est une teinte moins foncée qui résulte de la combinaison.

L'action de l'anhydride carbonique sur la fonction chromogène du bacille rouge permet d'expliquer certaines particularités que j'ai signalées dans les pages précédentes. Il arrive que des cultures soient colorées en rouge violacé à 18-20°; ce sont des races très vigoureuses, au point de produire des bulles gazeuses qui boursofflent les colonies. Je n'ai pu déterminer les conditions dans lesquelles ces races se produisent; d'ailleurs, elles ne sont pas fixes et, dans leur descendance, il se produit plus ou moins rapidement des colonies rouge carmin sur pomme de terre.

Lorsqu'on a des colonies douées d'une grande vitalité, la production d'acide carbonique est très active, et toute l'épaisseur de ces colonies est rouge pourpre violacé. Au contraire, à une végétation plus lente correspond une respiration moins énergique, et le pigment n'est violacé que dans les couches profondes, là où la diffusion des gaz se fait avec peine. A la surface, cette diffusion atteint son maximum et les colonies y sont colorées en rouge carmin.

Quant à la coloration rouge violacé que présentent toutes les cultures aux températures voisines de l'optimum, elle s'explique

par l'intensité des phénomènes respiratoires, et par une émission abondante d'acide carbonique. Les colonies développées à 30-35°, placées ensuite à 20°, perdent leur coloration violacée pour devenir rouge carmin, parce que la respiration diminue et permet à la couche superficielle de perdre l'excès d'acide carbonique.

La différence de teinte des colonies aux diverses températures est moins manifeste dans les cultures en tube de gélatine que sur pomme de terre ou sur gélose. Elle n'existe pas dans les milieux liquides, ce que j'attribue à la facilité avec laquelle les matières s'y mélangent; en outre, ces milieux sont bientôt saturés d'acide carbonique. Cependant, il se produit parfois de petits îlots rouge carmin à la surface d'une couche de gélatine, liquéfiée et vivement colorée par le bacille rouge.

Dissoute dans l'eau ou dans l'alcool, la substance rouge carmin des cultures à 18-20° donne une coloration plus pâle que la matière violacée des cultures à 30-35°. On ne s'en aperçoit pas si l'on n'a soin d'éviter le mélange de la couche superficielle moins foncée et des couches profondes saturées d'acide carbonique.

V

ACTION DE LA LUMIÈRE SUR LE BACILLE ROUGE.

Le bacille est particulièrement sensible à l'action de la radiation solaire.

Le 6 juillet 1889, trois cultures que je venais de préparer sur pomme de terre, ont été exposées dans une direction perpendiculaire aux rayons lumineux. La matière rouge ne résiste pas à une très vive insolation et se décolore. Un soleil moins ardent la respecte, mais influe néanmoins sur la race. Les trois cultures du bacille rouge furent retirées, l'une après une heure d'insolation, l'autre après trois heures et la troisième après cinq heures; toutes les trois furent placées à l'étuve à 33°.

La culture exposée au soleil pendant une heure a donné des colonies blanches et un petit nombre de taches roses. Celle qui avait subi l'influence solaire pendant trois heures a produit des colonies incolores, sauf quelques-unes qui étaient rose pâle. Cinq heures d'insolation avaient stérilisé la troisième culture.

Les colonies blanches des deux premières cultures ont été ensemencées sur tranches de pommes de terre placées à l'étuve à 33°. La coloration rose se développa dans presque toutes les colonies issues de la culture exposée pendant une heure au soleil. Sauf quelques exceptions, toutes les colonies qui provenaient de la semence insolée pendant trois heures étaient restées incolores. Au troisième passage sur pomme de terre de ces colonies, il n'y eut plus la moindre trace de coloration rouge. Nous verrons bientôt que cette variation s'est maintenue intacte dans des conditions déterminées. La lumière avait modifié la physiologie du bacille au point d'en faire une race décolorée des plus stables, capable de garder indéfiniment l'impression de la radiation solaire.

L'expérience a été répétée plusieurs fois avec le même succès. Il n'est pas nécessaire que la lumière soit très ardente pour déterminer la perte du pouvoir chromogène chez le bacille rouge. J'ai vu des cultures, exposées au soleil pendant trois, quatre ou six heures en septembre et octobre, donner aussi un mélange de colonies blanches et roses. Celles-ci étaient plus nombreuses que dans les cultures insolées pendant l'été. Quant aux colonies blanches, leur descendance avait une tendance assez prononcée à retourner au type originel ; néanmoins, j'ai pu en obtenir des races absolument décolorées. Le peu de stabilité des variations incolores obtenues en automne est la conséquence d'une radiation insuffisante et se conçoit sans difficulté.

Des cultures du bacille rouge faites à 18-20°, et qui avaient la teinte rouge carmin, ont donné également des races incolores à la suite d'une insolation suffisante.

Dans toute culture dont la semence a été exposée au soleil, on observe toujours des colonies entièrement blanches et d'autres d'un rouge plus ou moins pâle. Il faut attribuer ces différences à l'inégale sensibilité des germes vis-à-vis la lumière. Un autre facteur entre également en jeu : c'est la différence d'action de la radiation par suite de causes accidentelles, comme les impuretés qui recouvrent çà et là le verre, ainsi que l'inégale épaisseur de la couche de semence sur la tranche de pomme de terre.

Un certain nombre d'essais ont été faits pendant le mois d'octobre 1889 et le mois de juillet de 1890, dans le but de déterminer le rôle que joue l'oxygène dans les phénomènes

en cours d'étude, et la nature des rayons qui influent sur la perte de la fonction chromogène chez le bacille rouge. Des tubes de culture ont été exposés au soleil après avoir été vidés d'air ou remplis d'hydrogène ou d'acide carbonique. Il résulte de ces essais que l'action de la lumière sur le bacille rouge se fait surtout sentir en présence de l'air ; c'est alors seulement qu'il se produit des races décolorées d'une manière durable.

Dans le but de rechercher l'influence propre aux diverses régions du spectre, j'ai eu recours à des écrans constitués par des solutions saturées d'alun, de bichromate de potassium, de sulfate de cuivre ammoniacal et de sulfate de quinine. Les solutions qui servaient d'écrans avaient quinze millimètres d'épaisseur.

Sous l'alun, le bacille est impressionné aussi vivement qu'à la lumière directe ; il en est à peu près de même sous la solution de sulfate de quinine. Ce sont donc les rayons lumineux du spectre qui ont l'action prépondérante sur le bacille rouge. Cependant, les cultures dont les semences avaient été exposées au soleil sous la solution de bichromate de potassium n'en avaient gardé aucune modification bien apparente. Sous le sulfate de cuivre, la perte du pouvoir chromogène était un peu plus marquée. Il semble que toutes les radiations lumineuses interviennent dans la destruction du pigment et la production de races incolores chez le bacille rouge, mais que le maximum d'action appartienne à la partie la plus réfrangible de ces radiations.

VI

PROPRIÉTÉS DE LA VARIÉTÉ INCOLORE DU BACILLE ROUGE.

La variété incolore du bacille rouge, obtenue sous l'influence de la lumière, ne diffère du type ni par la taille des bâtonnets, ni par la rapidité du développement.

Sur lame de gélatine, les colonies ont le même aspect que celles du type originel ; celles qui sont superficielles se colorent, à 18-20°, en rouge pâle. Il en est de même en tube de gélatine à la température ordinaire.

Au contraire, les cultures sur gélose et surtout sur tranches de pomme de terre, placées à l'étuve à 25-35°, restent complètement incolores. A cette température, le type originel est toujours rouge violacé.

Trente-deux cultures successives de la race incolore ont été faites sur pomme de terre à la température indiquée. *Jamais* il n'est apparu la moindre trace de coloration.

Dans les liquides nourriciers, la constance de la même variété n'est pas moins remarquable. A la température ordinaire, de même qu'à l'étuve à 30-35°, le bacille demeure incolore, non seulement dans le bouillon, mais dans tous les mélanges qui se sont montrés les plus favorables à la production du pigment, tels que les albuminoïdes, la peptone, les sucres en solution alcaline, le lactate de calcium.

La culture dans des bouillons de plus en plus acides ne rend pas la fonction chromogène au bacille décoloré, comme cela se fait pour le bacille du lait bleu.

Dans le lait, il reste incolore à toutes les températures. La coagulation, sous l'influence de l'acidité, se produit tout aussi rapidement que dans les cultures du bacille rouge typique.

Quel que soit le milieu de culture où le bacille s'est maintenu incolore (pomme de terre ou gélose à 30-35°, bouillon, lait, mélanges nutritifs), la matière colorante reparait toujours quand on le reporte sur tranches de pomme de terre, à une température comprise entre 10 et 25°. La coloration est tout aussi vive que celle du type placé dans les mêmes conditions. Mais le retour de la fonction chromogène n'est pas définitif : dès que la race se retrouve dans les conditions indiquées plus haut, elle donne de nouveau des cultures tout à fait incolores. J'ai fait une douzaine de cultures successives sur pomme de terre, alternativement à 18-20° et à 30-35°, sans jamais avoir vu une colonie incolore à 18°, ni une trace de coloration à 35°.

Une colonie née à haute température ne devient pas colorée si on la porte ensuite à basse température. Lorsque la pomme de terre n'est pas complètement recouverte, on voit un bord rouge se former autour des colonies incolores. Inversement, une culture rouge à 18-20° ne se décolore pas à 35°; elle devient plus violacée par suite de l'activité des phénomènes respiratoires. Si

la croissance continue, les nouvelles formations sont tout à fait incolores.

La variété artificielle du bacille rouge se distingue donc par l'absence de coloration dans les milieux de culture liquides les plus divers à toutes les températures ; par le même caractère dans les cultures sur tranche de pomme de terre et sur gélose à 25-35°, et par une coloration rouge très pâle dans le bouillon gélatinisé. Elle ressemble au type dont elle provient, par la forme de ses bâtonnets et de ses colonies, et surtout par l'identité de coloration sur pomme de terre et sur gélose aux températures inférieures à 25°. Ces propriétés sont complètement stables depuis plus d'un an, malgré les nombreux passages subis par la variété incolore dans les milieux les plus différents.

Par le chauffage à 56 et à 63°, pendant cinq minutes, de semences de la variété incolore conservées pendant trois mois, j'ai obtenu une variété qui reste incolore, à toutes les températures, sur tranches de pomme de terre. Cette nouvelle variété est fort débile et peut être considérée comme le produit d'une véritable dégénérescence.

Quant au bacille rouge typique, il résiste à 63° sans présenter d'altération ni dans la coloration ni dans la vigueur du développement. Le chauffage à 70°, et pendant cinq minutes, le tue de même que la variété incolore.

Je ferai remarquer en terminant l'importance du retour de la fonction chromogène sur tranche de pomme de terre à la température ordinaire comme preuve de la pureté de mes cultures. A défaut de cette preuve, on aurait pu m'objecter que le bacille que j'ai étudié a été peu à peu remplacé accidentellement par une autre espèce dans la série de mes essais. Je me suis ainsi trouvé en mesure de rattacher directement la nouvelle race décolorée au type primitif. Mais on peut facilement concevoir des cas de variations qui n'ont plus d'attache avec leurs types originels. Et ceux qui les étudient seraient naturellement conduits à les considérer comme des formes spécifiques. Seules, des études expérimentales suffisamment variées pourront nous éclairer sur ces variations des Bactéries.

Il me semble, en outre, que quelques notions solidement établies sur des faits du même ordre, seraient de nature à appuyer

des idées qui tendent de plus en plus à se faire jour dans la science des microbes pathogènes. Supposons, en effet, pour fixer les idées, que le bacille rouge de Kiel soit pathogène et qu'il doive sa virulence à sa matière colorante. On serait naturellement porté à le considérer comme différent d'un bacille saprophyte qui lui ressemblait en tout sauf dans sa fonction chromogène. Celui-ci serait considéré comme inoffensif, jusqu'au jour où l'un de ces hasards de la vie de laboratoire aurait mis un expérimentateur sur la voie de la transformation de la race saprophyte en race pathogène. Dans notre hypothèse, par la culture sur pomme de terre à basse température, la première deviendrait capable de produire la substance toxique; elle serait devenue virulente.

Si l'étude des conditions de ce retour à la virulence n'a pas encore été abordée, il est déjà permis de prévoir sa possibilité, et d'envisager le vaste champ qu'elle fournira aux investigations dans un avenir peut-être rapproché. Les relations étroites signalées dans le dernier numéro de ces *Annales* par MM. Roux et Yersin, entre le bacille pseudo-diphthérique et le bacille diphthérique vrai, en fournissent un remarquable exemple.

Assurément, le transformisme indéfini des Bactéries rêvé par l'ancienne école polymorphiste n'est qu'une chimère. Mais quel vaste champ de recherches reste à explorer dans la voie des variations physiologiques des microbes!

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES MALTS DE BRASSERIE

PAR M. E. KAYSER.

(Travail du Laboratoire de fermentation de l'Institut national agronomique.)

Quelle est l'influence du mode et de la température de touraillage sur la composition du malt et les qualités de la bière qui en provient ? C'est là une question qui a été souvent étudiée, mais sur laquelle je me suis cru d'autant plus autorisé à revenir que je pouvais profiter d'une occasion assez rare en brasserie, celle d'étudier un malt touraillé à très haute température.

MM. Lauth, brasseurs à Carcassonne, ont en effet inventé un séchoir-touraille à sept plateaux, avec lequel ils peuvent obtenir des températures bien réglées et pouvant s'élever jusqu'à 120° et au delà. Ils m'ont très aimablement offert, et je les en remercie, de me préparer pour mon étude des malts d'une même orge touraillée à diverses températures jusqu'à 120°.

Je leur ai demandé de soumettre au même traitement trois orges de qualité différente, l'une qu'ils considéreraient comme bonne, l'autre comme médiocre, la troisième comme mauvaise, et c'est grâce à leur complaisance que ce travail a pu être fait.

I

Les orges étudiées étaient : A, une orge d'Algérie, de couleur grise irrégulière, et très barbue ; B, une orge paumelle, des environs de Carcassonne, à couleur d'un blanc jaunâtre ; et C, une orge d'Auvergne de très belle apparence.

Ces orges soumises à l'examen pratique ordinaire ont donné les résultats compris dans le tableau suivant.

TABLEAU I

	A	B	C
Poids de l'hectolitre	66 ^k ,5	65 ^k ,0	70 ^k ,0
Poids de 1000 grains.	42 ^{gr} ,47	39 ^{gr} ,45	46 ^{gr} ,0
Faculté germinative	99 ^o / _o	97 ^o / _o	99 ^o / _o
Grains farineux, p. 1000	310	390	210
— semi-farineux.	100	200	300
— vitreux.	590	300	490
Longueur du grain ébarbé	14 ^{mm} ,23	8 ^{mm} ,81	8 ^{mm} ,14
Diamètre du grain.	2 ^{mm} ,96	3 ^{mm} ,04	3 ^{mm} ,24
Rapport de la longueur au diamètre. . .	3,80	2,89	2,50

On voit dans ce tableau que pour le poids de l'hectolitre, celui du grain, et la faculté germinative, ces orges peuvent être classées comme de bonnes orges de brasserie.

La distinction des grains en grains farineux, semi-farineux et vitreux, n'a peut-être pas toute l'importance que les brasseurs lui attribuent d'ordinaire. On sait, en effet, par les expériences de Groenlund ¹ et de Johansen ², qu'on peut, par des trempages méthodiques suivis d'une dessiccation convenable, transformer la majeure partie des grains vitreux en farineux; quoi qu'il en soit, on voit que l'orge C, pour qui les grains farineux et demi-farineux font plus de la moitié de la somme, serait préférée par les brasseurs aux deux autres.

La longueur et le diamètre du grain, de même que le rapport de ces deux quantités, a aussi de l'importance. Ce rapport diminue à mesure que le grain devient plus court, plus ramassé, et contient plus de matière pour moins d'enveloppe. On voit que sous ce point de vue l'orge d'Auvergne tient encore la tête.

Étude chimique. — Dans toute la partie chimique de ce travail, aussi bien pour les orges que pour les malts, auxquels ont, du reste, été appliquées les mêmes méthodes d'analyse, tous les résultats ont été rapportés, pour rendre les comparaisons plus faciles, soit à 1,000 grammes, soit à 1,000 centimètres cubes du

1. *Landwirthschaftliche Presse*, 1890.

2. *Landwirthschaftliche Versuchsstationen*, 1888.

produit analysé, suivant que l'on avait affaire à un solide ou à un liquide.

L'eau a été dosée par dessiccation, à 100°, de 3 à 5 grammes de matière finement moulue; l'azote par la méthode bien connue de Kjeldahl-Aubin; les *matières grasses* par épuisement, au moyen de l'éther, de 5 grammes de matière préalablement séchée.

Pour le *sucre*, j'ai fait digérer pendant six heures 10 grammes de matière avec 100 grammes d'eau distillée, j'ai filtré et titré avec la liqueur de Fehling le sucre, que j'ai exprimé en maltose et rapporté à un kilogramme d'orge sèche. Je n'avais pas à tenir compte de l'action possible de la diastase pendant le contact, fait du reste à une température assez basse; cette action était faible, et ne pouvait pas empêcher mes résultats d'être comparatifs soit pour les diverses orges, soit pour une même orge touraillée à diverses températures.

C'est précisément parce que ce caractère comparatif était le seul que je voulais atteindre que j'ai pu simplifier le dosage de l'*amidon*, pour lequel il n'existe que des méthodes longues et peu sûres. Elles visent toutes à ne pas dépasser la limite qui existe entre l'amidon et la cellulose. Je crois cette limite trop peu définie pour qu'on soit jamais sûr de la rencontrer.

J'ai donc utilisé les données d'un mémoire de M. Bishop¹ sur le *dosage des matières sucrées*, et employé les acides dilués sous pression. J'ai attaqué 3 grammes d'orge par de l'acide chlorhydrique à 2%, pendant une heure à 115° en vase scellé; le volume total du liquide, non compris l'eau de l'orge, était de 50^{cc}, qui ont été filtrés au sortir de l'autoclave, et dosés avec la liqueur de Fehling après dilution préalable. On a naturellement tenu compte de la dilution produite par l'eau de l'orge.

Les chiffres trouvés par cette méthode sont, à très peu près, les mêmes que ceux que fournissent les autres, et elle a l'avantage d'être beaucoup plus courte.

Enfin, pour déterminer la proportion des matières solubles dans l'eau, j'ai fait digérer pendant 18 heures, à température assez basse, 5 grammes d'orge finement moulue avec 100^{cc} d'eau. On filtrait alors et on évaporait 20^{cc} : on a, comme plus haut,

1. *Moniteur scientifique de Quesneville*, 1888, p. 641.

tenu compte de l'eau apportée par l'orge. Les chiffres obtenus sont compris dans le tableau suivant :

TABLEAU II

	A	B	C
Eau	91,4	111,5	146,9
Maltose	21,4	20,8	32,1
Amidon.	678,0	675,5	681,0
Azote	17,6	16,0	16,4
Matières albuminoïdes.	110,0	100,0	102,5
Matières grasses.	19,0	20,8	17,9
Cendres	23,5	32,1	30,1
Matières solubles dans l'eau	94,2	93,4	84,4

Ce tableau sera surtout intéressant à comparer avec le tableau correspondant contenant les résultats de l'analyse des malts. Je ne veux pour le moment faire remarquer que les chiffres relatifs aux matières albuminoïdes, chiffres tirés, il est vrai, des teneurs en azote multipliées par le facteur un peu arbitraire 6,25, mais qui n'en sont pas moins plus élevés que ceux que les brasseurs recherchent d'ordinaire, parce qu'ils redoutent les orges trop riches sous ce point de vue. Nous verrons tout à l'heure qu'une orge riche en matières albuminoïdes ne fournit pas nécessairement une bière riche en principes protéiques, et que, là encore, l'art du brasseur ou du malteur peut intervenir utilement.

II

Les malts qui correspondent à ces orges ont été obtenus par MM. Lauth de la façon suivante : la trempe, faite avec de l'eau de puits contenant une dose convenable de calcaire, durait en moyenne 48 heures pour l'orge d'Afrique A, 72 heures pour les paumelles B et 84 heures pour l'orge d'Auvergne. Cette dernière germe très facilement, et on a laissé la plumule atteindre environ les $\frac{3}{4}$ de la longueur du grain ; on l'a arrêtée à la moitié pour les orges A et B.

La durée de la germination a été d'environ 8 jours, celle du touraillage de 30 à 36 heures.

Le tableau suivant indique les températures constatées dans le malt, sur chacun des plateaux de l'appareil, pour les

diverses orges touraillées à 85°, 100° et 120° comme température finale.

TABLEAU III

	APRÈS 1 H. DE MARCHÉ	UNE HEURE APRÈS	UNE HEURE APRÈS	APRÈS 1/2 DE MARCHÉ	UNE HEURE APRÈS	UNE HEURE APRÈS	UNE HEURE APRÈS	APRÈS 1 H. DE MARCHÉ	UNE HEURE APRÈS	UNE HEURE APRÈS
7 ^e plateau supérieur	49	20	23	22	24	25	26	29	31	30
6 ^e —	22	24	27	24	27	27	29	34	42	41
5 ^e —	26	27	29	26	31	32	34	42	47	48
4 ^e —	36	44	47	50	50	50	51	56	66	69
Gaz tempérés entrant dans le 4 ^e plateau (thermo- mètre extérieur).	51	52	51	54	62	67	67	67	67	68
3 ^e plateau.	57	58	60	51	62	67	67	81	81	82
2 ^e —	62	63	63	62	76	82	83	93	100	114
1 ^{er} —	85	84	84	86	90	99	95	106	120	121
Gaz chauds entrant dans le 1 ^{er} plateau (thermo- mètre extérieur).	82	85	85	90	96	97	95	114	120	115
	Malt touraillé à 85° c.			Malt touraillé à 99 c.				Malt touraillé à 120° c.		

On voit que, sauf les quelques oscillations inévitables dans la conduite d'un grand appareil industriel, la croissance de la température et son maintien se sont faits d'une façon suffisamment régulière.

Ces malts arrivés au laboratoire, nous avons à les examiner à deux points de vue : d'abord en les soumettant, autant que possible, aux mêmes épreuves que les orges correspondantes pour essayer de voir les changements de composition qu'avaient amenés sur chacun d'eux les températures diverses du touraillage. On pouvait ensuite, en les soumettant à la saccharification dans les conditions ordinaires, chercher comment se traduisaient sur les propriétés du moût et de la bière les divers modes de traitement auxquels on les avait soumis.

Nous commencerons par la première étude.

Comparaison des malts touraillés et des orges. L'eau, le sucre tout formé, l'azote, les matières albuminoïdes, les matières grasses, les cendres et les matières solubles dans l'eau ont été déterminées comme pour les orges.

On trouvera dans le tableau ci-dessous les chiffres obtenus ;

ils sont rapportés, dans la colonne intitulée « malt », à 1000 de malt sec ; dans la colonne intitulée « orge » à 1000 d'orge sèche, ceci pour rendre la comparaison plus facile avec les nombres du tableau II.

La transposition a été faite en tenant compte des chiffres suivants, fournis par MM. Lauth, à savoir que, dans leur touraille,

100 kilos d'orge touraillée à	60°	donnent	82	kilos de malt.
»	»	85°	—	80
»	»	100°	—	78.4
»	»	120°	—	77.8

Mais il y avait, en outre, dans le malt, un élément important à déterminer et qui nous servira de transition avec l'étude qui va suivre. C'est ce que j'ai appelé le *pouvoir diastasifère*. Il était probable que la haute température de touraillage devait avoir atteint la quantité de diastase contenue dans le malt, et d'autant plus qu'elle avait été plus élevée. Pour être renseigné à ce sujet, j'ai traité à froid pendant six heures 20 grammes de malt par 200 grammes d'eau ; j'ai filtré le liquide et j'ai fait agir 10^{cc} de cet extrait ainsi obtenu sur 100^{cc} d'empois d'amidon à 5 0/0 pendant une demi-heure à la température de 60°. La quantité maximum de sucre formée dans ces conditions n'est jamais telle que l'on n'ait plus le droit de compter sur la proportionnalité entre la quantité de diastase active et la quantité de sucre formé.

Pour arrêter la saccharification, on retirait au bout d'une demi-heure le ballon du bain chauffé à 60°, et on le plongeait 20 minutes dans l'eau bouillante ; puis, après refroidissement, on dosait le sucre, duquel on retranchait celui qu'on avait trouvé dans l'extrait primitif.

On pouvait donc calculer la quantité totale d'amidon que serait capable de saccharifier, dans les conditions ci-dessus, un kilogramme de malt, et ce sont ces nombres qu'on trouvera dans le tableau ci-dessous. Ces quantités d'amidon sont exprimées en maltose.

En les comparant avec les chiffres fournis par l'amidon dans le tableau de l'analyse des orges, on verra tout de suite, si le malt est capable ou incapable de saccharifier, dans les conditions déterminées ci-dessus, la totalité de l'amidon qu'il contient.

TABLEAU IV

DÉNOMINATION	POIDS DE L'HECTOLITRE	EAU	MALTOSE	AZOTE	MATIÈRES ALBUMINOIDES		MATIÈRES GRASSES		MATIÈRES SOLUBLES DANS L'EAU		CENDRES	POUVOIR DIASTASIFIÈRE
					MALT.	ORGE	MALT.	ORGE	MALT.	ORGE		
A ₁	53,5	48,6	45,0	19,5	421,9	99,38	48,8	45,4	437,4	112,7	23,0	692,2
A ₂	52,5	49,4	42,0	19,5	421,9	97,50	49,9	45,9	435,5	108,4	21,1	612,7
A ₃	51,5	20,9	39,1	20,2	426,3	98,75	48,6	44,6	439,5	109,5	20,1	296,6
A ₄	51,0	17,2	37,5	19,4	421,3	93,75	46,9	43,1	421,7	94,6	21,0	91,9
B ₁	53,5	47,8	54,9	17,2	407,5	86,25	20,2	46,2	459,7	127,8	31,5	682,6
B ₂	52,5	6,8	46,8	17,6	410,0	86,25	19,2	15,1	458,1	124,1	28,0	597,2
B ₄	52,0	sec	46,0	17,0	406,3	81,88	48,3	44,2	455,0	73,8	29,1	187,0
C ₂	54,5	42,5	81,0	14,2	88,8	71,25	16,5	13,2	160,0	128,0	23,6	2487,3
C ₃	53,5	44,0	77,2	14,3	89,4	70,63	16,5	13,0	105,5	82,8	24,4	2371,9
C ₄	52,5	2,3	56,1	15,0	93,8	72,50	16,5	12,8	86,2	67,0	25,9	1077,2

Dans ce tableau, les indices 1, 2, 3 et 4 se rapportent respectivement aux températures de 60°, 85°, 100° et 120°. On voit, en ce qui concerne l'eau, que les malts sont, ainsi qu'il fallait s'y attendre, d'autant plus secs qu'ils ont été touraillés à plus haute température; les faibles quantités d'eau trouvées dans quelques-uns, tiennent à ce qu'ils n'ont pas été analysés aussitôt qu'ils ont été préparés, et que, bien que renfermés dans des boîtes closes, ils ont pu reprendre de l'humidité.

Pour le maltose, on constate l'augmentation ordinaire, due évidemment au travail de la diastase pendant la germination.

Quant à l'azote et aux matières grasses, il y a une perte générale du malt à l'orge, perte qui doit être attribuée, en grande partie, au travail de formation de l'embryon et à la suppression des radicules. Quand on envisage seulement les malts, on voit que les orges A et B se sont enrichies en azote par le maltage, que l'orge C s'est, au contraire, appauvrie. Ces faits se rattachent, sans doute, aux phénomènes de transmutation de matières azotées pendant la germination, phénomènes sur lesquels nous ne savons presque rien; c'est pourquoi je n'insiste pas davantage.

J'ai une autre particularité à signaler: le tableau montre que la perte en matières grasses n'est pas la même pour des orges maltées dans les mêmes conditions, et augmente avec la tempé-

ture du touraillage. En passant de 60° à 120°, c'est-à-dire de

A ₁ à A ₄	elle est de :	18.8 ⁰ / ₀ , 16.3 ⁰ / ₀ , 23.1 ⁰ / ₀ , 31.0 ⁰ / ₀ .
B ₂ à B ₄	—	22.1 ⁰ / ₀ , 27.4 ⁰ / ₀ , 31.7 ⁰ / ₀ .
C ₂ à C ₄	—	26.2 ⁰ / ₀ , 27.3 ⁰ / ₀ , 28.4 ⁰ / ₀ .

elle augmente donc avec la température du touraillage, et une partie de cette perte est certainement due à un phénomène d'oxydation, avec toutes les conséquences qu'il entraîne.

Pour les matières albuminoïdes, l'influence de la température du touraillage est moins évidente, ici où notre procédé d'analyse ne nous permet pas de distinguer entre l'azote devenu soluble et l'azote resté insoluble dans les drèches. En recherchant ce qu'il y a d'azote dans les matières solubles dans l'eau froide pour l'orge C et les malts C₂ et C₄, j'ai constaté que la matière albuminoïde soluble dans l'eau froide augmentait un peu moins par le touraillage à 120° que par le touraillage à 80°. Mais nous allons trouver des différences bien plus importantes en examinant les moûts de saccharification obtenus avec ces divers malts.

Disons seulement, pour terminer ce qui est relatif à cette comparaison des orges et des malts, que les matières solubles dans l'eau, en plus forte quantité dans les malts que dans l'orge, diminuent notablement avec la température du touraillage et, enfin, en ce qui concerne les cendres, que les matières minérales, enlevées par le trempage ou passées dans les radicelles, sont en moins grande quantité dans les malts que dans les orges correspondantes.

III

ÉTUDE DES MALTS AU POINT DE VUE DE LA SACCHARIFICATION.

Pour cette étude, on a appliqué les méthodes ordinairement employées dans les laboratoires pour l'examen des malts de brasserie. Seulement, comme il s'agissait surtout ici de comparer le malt à l'orge, on a rapporté tous les chiffres à un kilogramme de malt.

Voici les résultats fournis par cette étude.

TABLEAU V

DÉNOMI- NATION	DURÉE DE SACCHARIFI- CATION	MALTOSE	DEXTRINE	NON MALTOSE A MALTOSE	EXTRAIT TOTAL	AZOTE DE L'EXTRAIT	Proportion de l'azote du malt contenu dans l'extrait	ACIDITÉ
A ₁	27'	460,2	262,2	0,63	752,0	4,7	24,40	0,45
A ₂	33'	435,8	242,6	0,61	702,2	4,2	21,54	0,57
A ₃	43'	427,0	241,4	0,68	746,2	3,8	18,81	0,73
A ₄	+ 120'	313,2	302,5	1,09	652,9	3,0	15,46	0,94
B ₂	35'	487,9	253,6	0,52	743,1	4,9	28,49	0,33
B ₃	50'	460,0	237,4	0,60	745,1	4,6	26,13	0,36
B ₄	+ 120'	384,2	280,0	0,79	689,6	3,7	21,76	0,43
C ₂	20'	460,0	214,7	0,61	743,7	5,3	38,73	0,68
C ₃	28'	462,9	237,4	0,64	760,8	5,6	37,16	0,58
C ₄	52'	433,6	262,3	0,70	736,5	4,8	32,00	0,71

Avant d'entrer dans l'examen de ce qui est relatif à l'influence de la température du touraillage, nous ferons remarquer, dans ce tableau, les différences profondes qui existent pour les malts A et C dans la proportion de l'azote du malt qui a passé dans l'extrait. L'orge A et tous les malts correspondants étaient plus riches en matières albuminoïdes que l'orge C et ses malts ; c'est l'inverse pour l'azote de l'extrait C qui est plus élevé qu'en A, et l'orge B, qui tenait la moyenne entre les deux, a donné un malt qui tient encore la moyenne entre les deux autres, de sorte que l'ordre est complètement renversé. Une orge riche en matières albuminoïdes ne donne donc pas nécessairement un moût riche en éléments azotés. La nature des matériaux albuminoïdes joue sans doute un rôle dans le phénomène, et aussi peut-être le mode de maltage.

Pour l'influence du touraillage, elle apparaît très nettement sur le tableau. On voit, en effet, que pour chacun de ces malts, la quantité totale d'azote contenue dans l'extrait, et aussi tout naturellement la proportion de l'azote du malt qui est passée à l'état soluble, diminuent à mesure que la température du touraillage s'élève, ce qui revient à dire que la quantité d'azote qui reste dans la drêche va en augmentant. La diminution constatée correspond donc à une perte pour le brasseur, qui peut avoir pourtant intérêt, dans le cas où il juge que son malt est trop riche en matières albuminoïdes, à en diminuer la quantité en élevant la température du touraillage.

L'acidité, que nous avons évaluée par un titrage à l'eau de chaux et exprimée en acide lactique, suit une marche inverse; elle augmente avec la température du touraillage et devient même plus que double du malt A_1 au malt A_4 . L'orge C, qui est la meilleure, échappe à cette variation notable; c'est un fait que nous nous bornons à signaler. Il se rattache sans doute à des conditions de germination sur lesquelles nous n'avons encore que des renseignements tout à fait insuffisants.

Si nous arrivons maintenant à l'étude de la saccharification, nous voyons que pour les malts A_4 et B_4 , provenant d'orges de qualité secondaire, la température de 120° a été décidément défavorable, car la durée de saccharification a dépassé deux heures d'une quantité que nous n'avons pas mesurée. C'est un fait qu'il faut mettre en rapport avec la diminution considérable du pouvoir diastasifère constatée dans le tableau IV. La diastase avait donc en grande partie été détruite dans les malts A_4 et B_4 par le chauffage à 120° , et comme les mêmes malts, à l'état vert, en contenaient naturellement très peu, ils se sont trouvés à la fin n'en contenir que des quantités très faibles, capables tout au plus de saccharifier $1/8$ ou $1/10$ de l'amidon du grain, dans les conditions de mesure du pouvoir diastasifère.

La diminution amenée par le touraillage dans la quantité de diastase n'est, en outre, pas la même pour tous les malts, et la nature de l'orge y est pour quelque chose. Nous voyons, en effet, dans le tableau IV, que la diminution de C_2 à C_4 pour le pouvoir diastasifère, est d'un peu plus de moitié seulement, et qu'elle est très inférieure à la diminution des malts correspondants A_2 et A_4 , B_2 et B_4 . Comme, en outre, ce malt C contenait des proportions de diastase plus considérable que les deux autres, on comprend qu'avec lui la durée de la saccharification, qui était de 20' et 30' pour les malts C_2 et C_3 , n'ait été que de 52', et soit, par conséquent, restée à peu près normale pour le malt C_4 chauffé à 120° .

En résumé, il n'y a pas à craindre une action nuisible du touraillage à 120° sur la durée de la saccharification, si le touraillage se fait sur une orge de bonne qualité bien germée, et s'il est conduit avec les précautions requises.

En ce qui concerne le maltose et la dextrine, on voit, d'une manière générale, que la quantité de maltose décroît et que la quantité de dextrine croît avec la température du touraillage,

si bien que, pour l'orge A de médiocre qualité, le rapport du non-maltose au maltose varie presque du simple au double. On peut donc avoir des bières très différentes avec une même orge germée, suivant que le touraillage se fait à plus haute ou à plus basse température, et cette influence du mode de touraillage, qui commence à être étudiée en Allemagne, nous paraît mériter l'attention qu'on lui prête. Mais il est important d'examiner de quel mécanisme dépendent ces variations entre le maltose et le non-maltose. On voit nettement sur le tableau qu'elles correspondent à une diminution dans la quantité de maltose avec la température du touraillage. Cette diminution est notable pour l'orge A, plus faible pour B, à peine sensible pour C, qui conserve encore ici sa prééminence; elle n'est qu'insuffisamment compensée par une augmentation en sens inverse de la dextrine.

L'influence de la température du touraillage se traduit donc et par une perte de la matière hydrocarbonée, qui reste dans la drêche, sans que rien dans la durée de la saccharification puisse avertir de ce qui se produit, et par une action sur la diastase, analogue à celle que produit en général la chaleur, et qui fait que cette diastase produit moins de maltose et plus de dextrine avec la même quantité d'amidon. En d'autres termes, il y a perte sur l'amidon, et diminution dans la proportion du maltose à la dextrine, ce qui permet encore, comme on le voit, de modifier notablement le type de la bière par le mode de touraillage. Notons, du reste, que la perte que nous signalions tout à l'heure, et qui pourrait effrayer le brasseur, ne se produit pas pour toutes les orges. Pour les malts C, elle est remplacée par une petite augmentation dans le total des matières hydrocarbonées.

Sous tous ces points de vue, le malt C vient donc en première ligne, suivi de près par le malt B, puis par le malt A. Ceci est d'accord avec les prix de vente : les malts d'orge d'Auvergne ont une valeur moyenne de 30 à 36 francs les 100 kilos, les malts d'orge paumelle de 30 à 32 francs, et les malts d'orge d'Afrique de 25 à 28 francs.

IV

Il était intéressant de faire avec ces divers malts des moûts de bière de concentration ordinaire, et de les faire fermenter.

Pour cela, après avoir soumis ces malts broyés à une saccharification complète par la méthode ordinaire employée dans les laboratoires, on a transvasé le moût avec le total des drêches dans un ballon de verre. On a amené à un poids déterminé avec de l'eau de Vanne, stérilisé le tout à 120° à l'autoclave Chamberland, et filtré. Les drêches, lavées à l'eau distillée à 60°, puis séchées à l'étuve Gay-Lussac, ont été pesées et soumises ensuite à un dosage d'azote. Cette étude a montré, comme on pouvait s'y attendre en partant de ce qui précède, que la proportion de drêches pour 1000 de malt sec augmentait avec la température du touraillage, notablement pour les malts A et B et plus faiblement pour le malt C. Il en est de même pour l'azote. Pour donner un exemple des variations trouvées, je dirai que de A₁ à A₄, la proportion de drêches a passé de 350 à 384 grammes pour 1000 de malt sec, et que l'azote pour cent s'est élevé de 3,47 à 3,63 % de drêche.

Les moûts obtenus de ces divers malts sont d'autant plus foncés que la température du touraillage a été plus élevée ; c'est une observation un peu en désaccord avec l'opinion régnante qui veut que le malt ne brunisse que lorsqu'il subit un coup de feu quand il est encore humide, et reste intact à quelque température qu'on le touraille lorsqu'il est sec. Le tableau VI donne leur composition.

TABLEAU VI.

	EXTRAIT BALLING	MALTOSE	DEXTRINE	NON-MALTOSE A MALTOSE	AZOTE	ACIDITÉ
A ₁	98,0	59,6	40,4	0,64	0,57	—
A ₂	99,0	59,4	39,6	0,67	0,49	—
A ₃	98,0	59,1	39,6	0,67	0,47	—
A ₄	97,0	50,6	47,7	0,72	0,45	—
B ₂	98,0	64,0	28,6	0,33	0,66	0,60
B ₃	98,5	60,4	35,3	0,63	0,65	0,61
B ₄	99,5	55,4	37,5	0,80	0,58	0,64
C ₂	121,0	78,3	34,3	0,54	0,87	0,93
C ₃	92,0 ¹	59,2	26,1	0,55	0,68	0,96
C ₄	115,5	68,2	43,9	0,69	0,72	1,30

1. Plus étendu.

On y retrouve dans des proportions différentes, puisque les conditions de saccharification n'étaient pas les mêmes, les variations dans la proportion de maltose, de dextrine, dans celle de l'azote et de l'acidité que nous avons constatées. Nous n'y reviendrons donc pas.

Quant à leur richesse au Balling, on voit qu'elle était à peu près normale, et qu'elle était même très élevée pour les moûts C. Il y a une exception pour le moût C₃ qui, par suite d'une erreur de pesée, n'a pas été fait dans les mêmes proportions que les autres.

Ces moûts ont étéensemencés à l'état pur à l'aide d'une très faible quantité de levure. J'ai soumis chacun d'eux à une fermentation par une levure haute isolée de la levure employée par M. Lauth, et par une levure basse retirée de la bière de Læwenbräu de Munich.

La première est une levure presque sphérique, de 6 à 8 μ de diamètre, donnant des spores sur plâtre en 24 heures à 25°, et en 36-48 heures à 15°; elle m'a donné également des spores dans du bouillon Liebig avec du lactose et de la craie; à l'état humide, elle résiste à 60° et ses spores à 65°; à l'état sec la levure meurt vers 115° et ses spores vers 125°.

La levure de Læwenbräu est une levure basse un peu ovale de 6 μ de large sur 8 μ de long; elle ne m'a jamais donné de spores; elle meurt à l'état humide à 50° et à l'état sec vers 100°.

La fermentation s'est faite d'une façon normale pour tous les moûts, sauf ceux qui provenaient des malts touraillés à 120°; les moûts des malts A₄ et B₄ n'avaient pas de mousse, aussi leur fermentation a-t-elle été beaucoup plus longue, mais elle a fini par se faire partout, sauf pour le moût A₄, qui s'est révélé comme décidément inférieur.

Les bières analysées ont donné les résultats compris dans les deux tableaux suivants :

TABLEAU VII. — LEVURE BASSE.

DÉSIGNATION DU MOÛT	EXTRAIT	ALCOOL EN POIDS	MALTOSE	DEXTRINE	NON-MALTOSE A MALTOSE	Atténuation	ACIDITÉ	AZOTE	CENDRES
A ₁	40,2	32,0	8,8	23,6	3,6	58,98	1,1	0,45	11,0
A ₂	41,9	32,0	8,9	26,7	3,7	57,67	1,3	0,39	14,0
A ₃	40,6	34,5	8,26	25,2	3,9	58,57	1,4	0,45	12,0
A ₄	54,2	24,0	11,9	31,6	3,6	44,12	1,4	0,36	15,0
B ₂	35,7	34,4	7,18	21,4	3,9	63,57	1,6	0,47	16,0
B ₃	39,0	32,0	7,40	25,0	4,2	60,40	1,9	0,50	16,0
B ₄	47,4	31,8	9,9	30,0	3,7	52,36	1,8	0,40	17,0
C ₂	43,8	42,2	8,8	24,9	3,5	63,80	1,2	0,64	22,0
C ₃	31,7	26,7	6,4	18,4	3,9	65,54	1,5	0,40	12,0
C ₄	47,2	41,9	9,2	28,4	4,0	59,13	1,9	0,55	25,9

TABLEAU VIII. — LEVURE HAUTE.

DÉSIGNA- TION DU MOUT	EXTRAIT	ALCOOL EN POIDS	MAL- TOSE	DEXTRINE	NON- MALTOSE A MALTOSE	Atténuation	ACIDITÉ	AZOTE	CENDRES
A ₁	41,4	32,7	9,10	22,9	3,5	57,75	1,3	0,36	11,0
A ₂	42,8	34,3	8,93	27,40	3,6	56,76	1,7	0,37	13,0
A ₃	41,4	32,0	8,43	26,60	3,8	57,75	1,4	0,39	13,0
A ₄	36,8	24,0	13,28	33,14	3,3	41,44	1,6	0,33	13,0
B ₂	36,1	33,3	6,89	21,6	4,2	63,16	1,9	0,41	12,0
B ₃	39,3	34,7	7,36	24,1	4,3	60,10	2,0	0,44	12,0
B ₄	47,9	31,6	9,9	31,0	3,8	51,86	2,1	0,34	14,0
C ₂	43,4	42,8	8,7	25,4	4,1	64,11	1,8	0,53	21,0
C ₃	33,0	32,0	6,7	18,3	3,9	64,13	1,5	0,47	18,0
C ₄	47,0	42,4	9,5	27,4	3,9	59,30	2,1	0,52	18,0

On voit que pour toutes ces bières, sauf A₄ et B₄, l'atténuation peut passer pour bonne et qu'elle est, en outre, toujours un peu plus élevée, toutes choses égales d'ailleurs, pour la levure basse que pour la levure haute, mais la différence est à peine sensible, si les malts sont de bonne qualité.

On voit en outre que cette atténuation diminue à mesure que la température du touraillage augmente, elle diminue même notablement pour les malts de qualité médiocre. La bière est d'autant plus dextrineuse et d'autant plus étoffée que le touraillage est fait à température plus élevée.

L'acidité rapportée à 1000 de mout va aussi en croissant avec la température du touraillage, et les chiffres sont plus forts avec la levure haute qu'avec la levure basse, ce qui tient sans doute à la proportion plus notable d'acides volatils, formés par la première.

La proportion du non-maltose au maltose après fermentation ne varie pas beaucoup non plus, lorsque l'on fait abstraction des bières A₄ et B₄, de sorte que, sous ce point de vue, l'influence de la température du touraillage passe presque inaperçue dans la fermentation, après s'être manifestée, cependant, d'une façon si nette sur les qualités du malt.

Il y aurait eu, il est vrai, à comparer ces diverses bières au point de vue du goût et de la saveur, mais ce n'est pas dans un laboratoire que l'on pouvait faire ces expériences.

Signalons en dernier lieu que la proportion d'alcool dépasse partout celle qui pouvait résulter de la fermentation du maltose

contenu dans le moût, et que cette augmentation est corrélative de la diminution dans la proportion de la dextrose.

On ne pourrait rien conclure d'une simple constatation de la disproportion entre l'alcool produit et le maltose disparu, parce que ce dernier, n'étant dosé qu'avec la liqueur de Fehling, n'est jamais connu exactement, tant qu'on ne sait pas d'une façon précise quel est le pouvoir réducteur des sucres que l'on dose ainsi. Ce n'est que lorsque la disproportion est notable, et que l'on constate, en même temps, la disparition d'une certaine quantité de dextrose, qu'on peut affirmer qu'une partie de celle-ci a fermenté. C'est là, du reste, une question sur laquelle je ne fais que passer, me proposant d'y revenir plus tard.

Je me borne à noter en terminant que la proportion d'azote dans la bière diminue avec la température du touraillage. Il y a là une influence complexe, résultant à la fois, et de la portion de matière azotée du moût devenue insoluble pendant le travail de la préparation du moût et sa fermentation, et de la quantité d'azote consommé par la levure.

Le tableau suivant donne : le poids de levure obtenu par la fermentation d'un litre de chacun des moûts ; la proportion centésimale d'azote dans chacune de ces levures, et la proportion de l'azote du moût pris et amené à l'état insoluble par la levure produite.

TABLEAU IX

MOÛTS	LEVURE HAUTE			LEVURE BASSE		
	POIDS	AZOTE %	Proportion d'azote du moût, pris par la levure	PRIX	AZOTE %	Proportion d'azote du moût, pris par la levure
	gr.			gr.		
A ₁	3,078	7,40	40,0	2,272	8,31	33,0
A ₂	2,994	6,49	39,8	2,283	7,81	36,4
A ₃	2,706	6,77	39,2	2,145	7,64	35,7
A ₄	1,885	5,71	23,7	1,730	6,66	25,4
B ₂	3,680	6,79	37,9	2,430	7,51	28,0
B ₃	3,395	6,82	35,3	2,435	7,23	26,9
B ₄	2,735	6,25	29,3	2,410	6,52	26,7
C ₂	3,600	8,05	33,1	3,311	7,93	29,9
C ₃	3,489	7,39	37,7	2,772	8,22	33,6
C ₄	3,450	6,66	34,5	2,483	7,54	26,1

On voit que, pour chacun des moûts, le poids de levure basse est plus petit que le poids de levure haute, mais que celle-ci est

en revanche, moins azotée que l'autre ; la compensation ne se fait pas, et la proportion d'azote du moût pris par la levure reste presque toujours au-dessous, pour la levure basse, de ce qu'elle est pour la levure haute.

On voit, en outre, que le poids de levure basse ou haute et la proportion centésimale d'azote du moût pris par la levure, décroissent à mesure que la température du touraillage s'élève ; ce qui témoigne que cette température a sur la marche de la fermentation une influence qui, pour ne pas s'être manifestée d'une façon bien nette dans les tableaux VII et VIII, n'en est pas moins marquée, et se serait certainement révélée si nous avions pu faire avec ces moûts des bières de dégustation.

En résumé, il résulte, je crois, de cette étude que l'influence de la température du touraillage est considérable sur la valeur du produit, mais qu'elle dépend d'une foule de circonstances : nature de l'orge, méthode de saccharification, nature de la levure, etc. Tous ces facteurs combinent leur influence, et il serait intéressant de déterminer exactement dans les diverses circonstances quelle est la part qui revient à chacun d'entre eux.

Le problème intéresse à un trop haut degré l'industrie de la brasserie, pour être de ceux qu'on abandonne. Maintenant qu'il est posé, il faut le résoudre.

ÉTUDE SUR LA VALEUR DÉSINFECTANTE DE L'ACIDE SULFUREUX

PAR LE D^r L. H. THOINOT ¹.

L'acide sulfureux, dégagé par la combustion du soufre, a eu comme agent de désinfection les fortunes les plus diverses.

Employé dès le siècle dernier pour arrêter la marche des épidémies, il a été fort en vogue dans le nôtre jusqu'à une période très récente; puis il s'est vu, à l'époque contemporaine, contesté et relégué à un rang très inférieur par la plupart des auteurs.

Les expériences les plus contradictoires avaient, en effet, jeté coup sur coup la confusion dans les esprits, et en 1882, un hygiéniste des plus compétents, M. Vallin, écrivait ces mots significatifs : « Il est surprenant de voir à quel point, même à l'époque actuelle, on est peu fixé sur sa valeur désinfectante ». La question n'a guère changé en 1890.

Résumons tout d'abord en quelques mots les principaux travaux qui ont précédé le nôtre, dans cette voie de l'étude de la valeur désinfectante de l'acide sulfureux.

Dougall et Baxter ont, les premiers, institué des expériences précises : ils opéraient sur du vaccin desséché. Sternberg, en 1880-1881, a, lui aussi, expérimenté sur du vaccin frais ou desséché. — Les conclusions de ces auteurs furent que SO^2 détruisait, à des doses variables d'ailleurs, la virulence du vaccin.

M. Vallin, en 1881, opéra sur du pus morveux et sur du pus d'un abcès par congestion, et fit la preuve de l'action de SO^2 sur le virus morveux et tuberculeux par l'inoculation aux animaux.

1. La plus grande partie de cette étude expérimentale a été faite en commun avec notre ami M. Masselin.

Ces diverses expériences plaident en faveur d'une action réelle de SO^2 .

Mais des travaux étrangers vinrent jeter la défaveur sur cet agent. Gärtner et Schotte (1880) montrèrent que des liquides de culture,ensemencés avec des *bactéries* ou de l'*urine putréfiée*, ne devenaient stériles qu'après une exposition à de très hautes doses d'acide sulfureux.

Ils montrèrent aussi que des bandes épaisses d'étoffe, imbibées de liquides de culture chargés de bactéries, étaient capables, après sulfuration, d'ensemencer un liquide nutritif.

Wolffhügel (1882) montra que les spores charbonneuses résistaient à l'acide sulfureux, et aussi les spores de la terre de jardin.

M. Dujardin-Beaumetz (1884), expérimentant à l'hôpital Cochin sur la lymphe vaccinale et quelques cultures microbiennes, montrait l'action réelle de SO^2 sur la lymphe, et son inefficacité sur la bactériémie charbonneuse.

Un des élèves de M. Beaumetz, enfin, M. Dubief, instituait et publiait récemment (1889) dans le *Bulletin de Thérapeutique*, deux séries d'expériences. Dans la première, il faisait voir que des tubes de gélatineensemencés avec divers microbes restent stériles si on les expose dans une cloche où se dégage de l'acide sulfureux; mais tout aussitôt il mettait en lumière le peu de valeur d'une pareille expérience, où le milieu de culture devient acide, et par conséquent impropre au développement de la plupart des microorganismesensemencés.

Dans la 2^e expérience, il croyait tourner la difficulté et se rapprocher des conditions vraies de la pratique, en opérant « non plus sur des germes contenus dans une culture, mais sur des germes tels que la nature nous les offre ». Il opérait alors dans une chambre close, comptait les bactéries avant et après la sulfuration que SO^2 exerçait, et montrait ainsi une action destructive, non complète, mais bien prononcée sur les germes de l'air.

Tel est, à grands traits, l'ensemble des expériences sur lesquelles on s'appuie aujourd'hui pour juger de la valeur désinfectante de l'acide sulfureux.

Pour discuter leurs résultats, il faudrait entrer dans un examen détaillé des conditions dans lesquelles elles ont été faites,

et qui n'ont pas toujours été irréprochables. Les progrès de la connaissance ne nous permettent plus aujourd'hui de nous contenter, dans l'étude d'un antiseptique, des notions vagues qui suffisaient autrefois. Nous savons que l'antiseptique d'un microbe n'est pas celui d'un autre microbe; nous connaissons aussi, beaucoup mieux que nos devanciers, les *signes de la mort* dans le monde des infiniments petits, et il est d'ordinaire facile de satisfaire aux conditions expérimentales qui résultent de ces notions. Il est toujours plus difficile de bien préciser le terrain sur lequel on se place ou auquel on peut étendre ses résultats. Si on verse du côté de la pratique courante, on peut être accusé de sortir des conditions scientifiques d'une expérience précise. Si on fait une expérience, dans le sens absolu du mot, on risque de se mettre tout à fait en dehors des conditions de la pratique.

J'ai essayé, dans les recherches qui suivent, de me tenir à égale distance de ces deux extrêmes, et d'établir, à propos de divers microbes pathogènes, des règles de désinfection précises, qui, sans avoir la sécurité absolue d'une expérience de laboratoire, puissent pourtant donner aux services sanitaires une confiance supérieure à celles qu'ils peuvent tirer de toutes les notions existant en ce moment dans la science. Voici comment j'ai opéré.

J'ai soumis à l'action de l'acide sulfureux les virus suivants : vibron septique de Pasteur; charbon bactérien ou symptomatique; charbon bactérien; tuberculose; morve; fièvre typhoïde; diphtérie; choléra asiatique; farcin du bœuf de la Guadeloupe.

Ces virus étaient librement exposés à l'action de l'acide sulfureux dans une chambre de 50 mètres cubes, prise au hasard dans les bâtiments de l'ancienne communauté de la Charité, pour nous rapprocher des conditions de la pratique courante. Toutes les issues et fissures de cette pièce étaient hermétiquement obturées au plâtre et au mastic; quant à la porte d'entrée et de sortie, elle était elle-même fermée au mastic pendant l'opération.

L'acide sulfureux était obtenu par la combustion de la fleur de soufre à des doses variables; le poids de soufre brûlé pendant l'opération était ensuite soigneusement relevé.

a) Toutes les fois que l'espèce microbienne étudiée s'y prêtait, on a fait la preuve de l'action du désinfectant par l'inocu-

lation de la culture sulfurisée à des animaux appropriés; cette inoculation d'épreuve était toujours accompagnée d'une inoculation *de contrôle* faite avec une culture de même date et de même origine, non soumise à SO^2 , à des animaux *témoins* de même espèce. Ces deux cultures, l'une sulfurisée et l'autre non, étaient en même tempsensemencées par comparaison dans des milieux appropriés.

b) Les cultures des espèces microbiennes qui ne se prêtent pas à des inoculations aux animaux (fièvre typhoïde, etc.) étaient seulement semées sur de nouveaux milieux nutritifs, après sulfurisation, en même temps que des cultures *témoins de même date et de même origine*.

c) Nous avons opéré autant que possible sur des cultures en milieu solide, et cela pour pouvoir plus facilement débarrasser les cultures désinfectées de l'acide sulfureux, avant inoculation ou ensemencement nouveau.

Pour cela, à l'exemple de M. Yersin, nous prélevions avec un fil de platine un assez gros fragment de la culture désinfectée, que nous agitions longuement dans de l'eau distillée stérile, avant de l'inoculer ou de l'ensemencer à nouveau.

d) Les matières virulentes soit pures, — pus de farcin de bœuf, pus de sarcocèle morveux, — soit impures, — poudre de charbon symptomatique, crachats tuberculeux, etc., — étaient, après sulfurisation, vérifiées par l'*inoculation*, faite parallèlement avec des substances témoins de même provenance. Avant l'inoculation, les substances désinfectées étaient débarrassées autant que possible de la substance désinfectante par un lavage ou un séjour prolongé dans l'eau distillée stérile.

Telle a été d'une façon générale notre technique; le détail de nos expériences relèvera les particularités pour chaque cas.

Il est bien entendu que nous ne citons, dans les lignes suivantes, que quelques expériences choisies dans notre cahier entre beaucoup d'autres. Nous avons toujours répété une expérience, même concluante, le plus grand nombre de fois possible, et toujours au moins trois fois.

A. — VIBRION SEPTIQUE. SEPTICÉMIE DE PASTEUR.

Nous avons soumis à l'action de l'acide sulfureux le vibrion septique sous les 4 formes suivantes : — 1. Culture en bouillon.

— 2. Culture desséchée ¹. — 3. Sérosité prise sur un cobaye mort de septicémie. — 4. Poudre septique ².

EXP. — Quelques centimètres cubes de sérosité, prise sur un cobaye qui vient de mourir de la septicémie de Pasteur, sont sulfurisés à 60 grammes de soufre brûlé par mètre cube d'air et pendant 48 heures.

Deux cobayes, inoculés avec cette sérosité, meurent en moins de 24 heures.

EXP. — Quelques centimètres cubes de poudre septique sont sulfurisés à 65 grammes de soufre par mètre cube pendant 48 heures. La poudre est ensuite inoculée sans lavage à 3 cobayes qui meurent en 18 heures.

EXP. — Les cultures liquides de vibrion septique, les cultures desséchées, préparées suivant le mode indiqué plus haut, ont résisté, de même, à l'acide sulfureux produit par la combustion de 60 grammes environ de soufre par mètre cube d'air et avec contact prolongé pendant 24 à 48 heures, et prouvé leur vitalité par l'inoculation aux cobayes qui mouraient de septicémie dans les délais habituels.

La conclusion est que le vibrion septique n'est nullement attaqué par l'acide sulfureux, même à dose très élevée.

B. — CHARBON SYMPTOMATIQUE.

Nous n'avons soumis à l'épreuve de SO^2 que la poudre de charbon symptomatique.

EXP. — Dose de soufre brûlé par m. c. : 60 gr. — Exposition pendant 24 heures. — Quelques centimètres cubes de poudre de charbon symptomatique sulfurisés, puis lavés soigneusement à l'eau distillée, sont inoculés, avec addition de 2 gouttes d'acide lactique, à 4 cobayes qui meurent du charbon symptomatique.

EXP. — 65 gr. de soufre par m. c. — 48 heures d'exposition. — Quelques centimètres cubes de poudre de charbon symptomatique sont, après cette sulfuration, soigneusement lavés, et inoculés, avec addition d'acide lactique, à 4 cobayes qui meurent l'un en 21 heures, le 2^e en 34 heures, le 3^e en 54 heures. Le 4^e survit et n'a jamais présenté la moindre tumeur charbonneuse au lieu de l'inoculation (face interne de la cuisse).

1. Dans un tube à essai stérile, bouché à l'ouate, on dispose un carré de linge ; on stérilise l'appareil à l'autoclave ; on verse sur le carré de linge quelques gouttes de culture de vibrion septique, et l'on dessèche dans une cloche à chlorure de calcium. L'appareil est prêt à être soumis à SO^2 .

2. La poudre septique se prépare simplement en faisant dessécher à l'étuve de la sérosité recueillie sur un cobaye mort de septicémie. Après dessiccation, il reste dans le verre de montre un vernis brillant, qu'on pulvérise. Cette poudre est très virulente.

De ces expériences, et d'autres en nombre, nous pouvons conclure que l'acide sulfureux n'agit pas sur le virus du charbon symptomatique desséché, et que, pour n'obtenir encore qu'une action *inconstante*, il faut porter à haute dose la quantité de soufre brûlé, avec prolongation d'action pendant 48 heures.

C. — CHARBON BACTÉRIIDIEN.

Nous avons éprouvé la bactéridie charbonneuse à l'état sec, en culture liquide, et en culture sur gélose.

Exp. — 60 grammes de S par m. c. — 48 heures. — On dilue au fond d'un tube à essai, dans quelques gouttes d'eau stérilisée, une parcelle de culture charbonneuse sur gélose; le tube est porté à l'étuve à 37° et y demeure jusqu'à dessiccation complète. On sulfurise, et on verse ensuite dans le tube 2^{cc} d'eau distillée, on agite, et on inocule à deux cobayes qui meurent dans les 36 heures.

Exp. — Une culture charbonneuse, sur gélose récente, est sulfurisée pendant 48 heures. — 60 grammes de soufre par m. c. — On prélève ensuite une parcelle de la culture, on la lave soigneusement à l'eau distillée stérile, et on ensemence sur deux tubes de gélose. La culture pousse en 24 heures dans l'un et l'autre tube, et tue en 48 heures un cobaye auquel on l'inocule.

Exp. — 63 grammes de S. par m. c. — 48 heures. — Un matras Pasteur, contenant une culture de bactéridie datant de trois jours, est soumis à SO². Après cette épreuve la culture sert aux opérations suivantes :

1^o Trois cobayes sont inoculés et meurent du charbon en 36 à 48 heures;

2^o Avec une pipette, on prélève quelques gouttes dans le matras qui contient la culture sulfurisée, dont la réaction est extrêmement acide. Ces quelques gouttes sont semées dans un ballon A, et tout aussitôt de ce ballon A on porte quelques gouttes dans un ballon B qui donne en 24 heures une belle culture de bactéridie *virulente*¹.

4. Les trois expériences suivantes méritent d'être relatées brièvement; elles montreront, d'une part, comment se comporte la bactéridie dans un milieu acidifié par SO², et feront saisir sur le vif une cause d'erreur signalée par M. Duclaux dans une de ses *Revue*s critiques.

Exp. — On dépose sur un carré de linge stérile, contenu dans un tube à essai stérile, quelques gouttes de culture charbonneuse; on fait dessécher sur le chlorure de calcium puis on soumet à SO². — 48 heures, 28^{gr.} de S par m. c. — Après la sulfurisation, on ajoute quelques centimètres cubes de bouillon stérile dans le tube, et on porte à l'étuve. Il se fait dans ce milieu acide une culture parfaitement nette de charbon.

Exp. — 24 heures, 40^{gr.} de S par m. c. — Même expérience que ci-dessus : mais la culture, au bout de 48 heures d'étuve, se présente avec les caractères suivants : très acide, à peine *louche*; pas de filaments, pas de pelotons bactériidiens, mais

On peut conclure de tout ceci que l'acide sulfureux n'a aucune action sur la bactériodie charbonneuse.

D. — TUBERCULOSE.

Nous avons expérimenté sur le bacille de Koch sous les deux formes suivantes : 1^o Cultures; 2^o Crachats.

1^o CULTURES. — Nos cultures provenaient du laboratoire de notre maître et ami M. Nocard; ce sont des cultures sur gélose glycosée glycérinée et en bouillon glycosé glycériné, entretenues depuis de longs mois par passages sur le lapin ou la poule, (inoculations intra-veineuses), cultures de virulence toujours identique et toujours constante.

Exp. — Culture en bouillon glycériné, datant de 3 semaines, exposée 24 heures. 60 grammes de S par m. c. On en prélève purement quelques centimètres cubes, qu'on neutralise par quelques gouttes de carbonate de soude stérile, et on inocule dans les veines de trois lapins A, B, C. La culture, avant son exposition à SO_2 , avait servi à inoculer dans les veines deux lapins D et E.

E meurt au 16^e jour, et sa rate, déjà remarquablement hypertrophiée, fournit une belle culture sur gélose glycérinée. D meurt au 22^e jour, avec les lésions connues de la tuberculose infectieuse, type Nocard et Roux.

Quant aux trois lapins inoculés avec la culture soumise à SO_2 , voici leur histoire. — A meurt au 9^e jour; ni à la culture ni au microscope sa rate, normale d'aspect, ne fournit la réaction tuberculeuse.

B et C étaient survivants et en bon état 4 mois après.

Exp. — Deux cultures en bouillon glycériné de même âge (20 jours), et de même provenance, sont soumises à SO_2 pendant 24 heures, l'une à la dose de 40 grammes de S par m. c., l'autre à la dose de 50 grammes. Ces deux cultures servent ensuite, — après neutralisation au carbonate de soude stérile, — à inoculer dans les veines chacune deux lapins, qui sont vivants 60 jours après et sacrifiés alors pour d'autres expériences, tandis que trois lapins témoins, inoculés avec la même culture non désinfectée, meurent l'un en 18, l'autre en 21, le 3^e en 30 jours avec les lésions typiques.

seulement des bâtonnets. On inocule la culture, qui paraît bien maigre : elle tue le cobaye en 36 heures.

Exp. — 24 heures. — 40 grammes de S par m. c. — Même procédé que ci-dessus. Après 48 heures d'étuve, la culture *n'a pas poussé*; la réaction est extrêmement acide. On dirait la bactériodie morte. Il n'en est rien; elle n'a pu se développer dans ce milieu défavorable, mais elle est bien vivante et en voici la preuve. On extrait le linge, on le presse fortement, et on inocule le produit d'expression à un cobaye qui meurt en 36 heures.

Exp. — 24 heures. 40 grammes de S par m.c. Cinq tubes de culture de tuberculose sur gélose glycinée sont exposés le 5 avril 1890 à l'action de SO^2 . Désignons ces cinq tubes par A, B, C, D, E.

A	renferme une culture du 19 novembre 1889.
B	— — 4 janvier 1890.
C	— — 4 janvier 1890.
D	— — 4 février 1890.
E	— — 5 mars 1890.

Avant leur exposition à SO^2 , on prélève dans chacun une parcelle de culture qu'on ensemente sur un tube de gélose glycinée : ce sera le témoin. Après sulfurisation, on sème une parcelle de la culture de chacun des tubes A, B, C, D, E, — parcelle préalablement lavée avec soin dans l'eau distillée stérile, — sur deux tubes de gélose glycinée.

Les tubes témoins et les tubes contenant la culture désinfectée sont mis côte à côte à l'étuve à $+ 39^\circ$. 20 jours après, on constate que tous les tubes témoins ont donné une belle culture de tuberculose; aucun des tubes ensemençés avec la tuberculose sulfurisée n'a poussé, et au 40^e jour il en était de même.

2° CRACHATS TUBERCULEUX. A. *Crachats humides*. Exp. — 24 heures. 50 grammes de S par m.c. Des crachats de tuberculeux, ainsi soumis à l'épreuve de SO^2 , sont inoculés après lavage à l'eau distillée, à trois cobayes, sous la peau de la cuisse; ces mêmes crachats, avant désinfection, avaient servi à inoculer trois cobayes témoins. Ces trois derniers cobayes meurent tuberculeux dans les environs du 30^e jour.

Des trois cobayes inoculés avec les crachats soumis à SO^2 , l'un vivait au 65^e jour et fut tué pour une autre expérience; la rate et le foie étaient absolument intacts à l'examen macroscopique comme à l'examen histologique.

Le second survécut aussi; le 3^e mourut au 31^e jour par une nuit de froid intense dans une cage mal protégée. Au point d'inoculation existait un seul ganglion caséeux; la rate était à peine augmentée de volume, et pourtant contenait des tubercules, petits, maîtres nets et non douteux. La mort avait surpris l'animal au moment où ses lésions tuberculeuses allaient évoluer. Si on remarque d'autre part que les témoins morts à la même époque présentaient des lésions tuberculeuses intenses, aussi bien au point d'inoculation qu'à la rate et au foie, on conclura que SO^2 avait détruit sans doute une grande partie des bacilles de Koch dans le crachat, mais que quelques-uns avaient échappé.

Exp. — 24 heures. — 60 grammes de S par mètre cube. — Des crachats tuberculeux, très riches en bacilles, et ayant fait leurs preuves sur le cobaye, sont, après sulfurisation, soigneusement lavés et débarrassés de leur acide sulfureux par un séjour prolongé dans l'eau distillée stérile. Puis ils sont inoculés :

- a) Dans le péritoine de trois cobayes.
- b) Sous la peau de la cuisse de cinq cobayes.

a) Des trois cobayes inoculés dans le péritoine, un meurt au 42^e jour, sans aucune lésion macroscopique ou histologique des viscères abdominaux. Les deux autres étaient vivants au 90^e jour après l'opération.

b) Des cinq cobayes inoculés sous la peau de la cuisse, un meurt au 7^e jour : *pas de lésion locale*; pas de lésion viscérale, ce qui a moins de signification en l'espèce. Les 4 autres étaient bien portants, en bon état, au 90^e jour après l'opération.

B. *Crachats desséchés*. — Exp. — 24 heures. — 60 grammes par mètre cube. — Des crachats de tuberculeux, extrêmement riches en bacilles de Koch, sont soumis à la dessiccation à l'étuve (37° pendant 24 heures). Après la sulfuration, ils sont soigneusement lavés à l'eau distillée, et inoculés sous la peau de six cobayes. L'un meurt au 30^e jour sans lésion locale ni viscérale macroscopique ou microscopique ; les cinq autres étaient vivants et en bon état au cinquième mois après l'opération.

Les mêmes crachats desséchés, inoculés avant la sulfuration à deux cobayes, avaient tué ces animaux.

De cette série d'expériences sur les cultures et les crachats tuberculeux, nous pouvons conclure qu'après 24 heures d'exposition à l'acide sulfureux produit par la combustion de 60 grammes de soufre par mètre cube, le bacille de Koch est détruit même sous la forme qui paraît la plus résistante : le crachat ; une dose moindre ne donnerait avec cette dernière matière qu'une sécurité inconstante.

E. — MORVE.

Notre réactif expérimental de la morve a été le cobaye mâle traité par l'inoculation intrapéritonéale, suivant la méthode de M. Straus.

Le virus morveux dont nous nous sommes servis était gardé et entretenu dans un état d'activité constante de la façon suivante. Une première culture virulente, provenant du laboratoire de M. Nocard, fut injectée dans le péritoine de deux cobayes mâles qui succombèrent l'un et l'autre, après avoir présenté le sarcocèle caractéristique. Le pus du sarcocèle futensemencé sur pomme de terre, et cette culture fut inoculée, au bout de quelques jours, dans le péritoine de deux nouveaux cobayes dont le pus testiculaire nous servit à faire deux nouvelles cultures, etc., etc. La série des cultures et des inoculations intrapéritonéales se succéda ainsi sans interruption.

Pour éprouver la résistance de nos cultures morveuses à SO^2 , nous opérions de la façon suivante :

La culture choisie (culture sur pomme de terre et récente, provenant de pus testiculaire) étaitensemencée sur deux tubes de pommes de terre *témoins* ; elle était en même temps inoculée dans le péritoine à deux cobayes *de passage*. Après ces deux opérations, la culture était soumise à SO^2 , et alors, *d'une part*, ensemencée, après lavage à l'eau distillée stérile, sur deux tubes de pomme de terre, *d'autre part*, inoculée, après lavage, dans le péritoine de deux cobayes.

L'activité de notre virus morveux résulte de ce fait que, pendant la longue série de nos inoculations doubles de passage, nous n'avons vu résister qu'un seul cobaye, qui survécut après avoir présenté, d'ailleurs, un énorme sarcocèle.

La série de nos expériences avec SO^2 nous a démontré que les cultures de morve étaient détruites par une exposition de 24 heures à l'acide sulfureux provenant de la combustion de 60 grammes et même de 50 et 40 grammes de soufre par mètre cube.

F. — FIÈVRE TYPHOÏDE.

Nous n'avons exposé à SO^2 que des cultures en provenance directe de rate de typhiques, et nous n'avons été que trop à même de nous procurer du bacille d'Eberth de cette provenance pendant le mois de novembre 1889, lors de la recrudescence typhoïde produite par la distribution d'eau de Seine, à la suite de rupture de conduites de la Vanne.

EXP. — 24 heures. — 60 grammes de S par m. c. — Deux tubes de culture du bacille typhique sont ainsi exposés à SO^2 . Après un lavage soigné à l'eau distillée stérile, une parcelle de chacun d'eux est insérée dans deux nouveaux tubes de gélatine. Ces tubes restent stériles, pendant que des témoins, ensemencés avec la même culture, avant sulfurisation, donnent une culture normale.

EXP. — 24 heures. — 60 grammes de S par m. c. — Une parcelle de culture de fièvre typhoïde est délayée dans deux tubes stériles, avec quelques gouttes de bouillon stérile; les tubes sont portés à l'étuve à 37° jusqu'à dessiccation complète.

L'un deux est soumis à SO^2 . Après l'opération, on lave à plusieurs reprises à l'eau distillée stérile le fond du tube où s'est desséchée la culture; cette

masse est enfin reprise par l'eau distillée stérile, aspirée dans une pipette, et semée abondamment sur deux tubes de gélatine où elle ne donne aucun résultat. La culture sèche témoin est reprise par l'eau distillée, et semée sur gélatine où elle pousse normalement.

La conclusion est que 24 heures d'exposition à l'acide sulfureux produit par la combustion de 60 grammes de soufre, par mètre cube détruisent sûrement la vitalité du bacille d'Eberth.

G. — DIPHTÉRIE.

Nous avons opéré sur des cultures que nous a remises M. Roux, et que nous avons entretenues par passage sur sérum.

Exp. — 24 heures. — 60 grammes de S par m.c. — Trois tubes de sérum, contenant une culture de diphtérie de huit jours, sont soumis à SO^2 . Avant l'opération, on a prélevé dans chacun d'eux une parcelle qui a servi à ensemençer un tube de sérum témoin. Après la sulfurisation, on prélève pour chaque tube une parcelle de semence, qu'on lave soigneusement, et qu'on porte sur un tube de sérum. Les tubes témoins et les tubes contenant la culture désinfectée sont mis côte à côte à l'étuve. Les premiers poussent normalement en 24 heures; les seconds n'ont rien donné au 13^e jour.

Nous pouvons conclure de notre série d'expériences sur le bacille de Klebs que ses cultures sont détruites sûrement par l'exposition pendant 24 heures à l'acide sulfureux provenant de la combustion de 60 grammes de soufre par mètre cube.

H. — CHOLÉRA ASIATIQUE.

Les cultures sur lesquelles nous avons opéré sont des cultures entretenues par passage au laboratoire depuis de longs mois. Nous regrettons de n'avoir pu faire mieux, car la virulence de telles cultures doit être en partie affaiblie : en tout cas l'acide sulfureux peut juger leur vitalité, sinon leur virulence.

Nos expériences nous ont démontré que le bacille virgule ne résiste pas au contact pendant 24 heures de l'acide sulfureux produit par la combustion de 60 grammes de soufre par mètre cube. Des doses inférieures, 50 grammes, 40 grammes, en viennent d'ailleurs tout aussi aisément à bout.

I. — FARCIN DU BŒUF DE LA GUADELOUPE.

Les lecteurs des *Annales* connaissent bien cette curieuse maladie, véritable type de maladie expérimentale pour le cobaye, décrite par M. Nocard.

Le virus du farcin de bœuf a toujours été entretenu au laboratoire de M. Nocard par des inoculations et des cultures en série, et d'ailleurs, jamais jusqu'ici la virulence des cultures ou du pus farcineux le plus ancien n'a été trouvée en défaut.

Nous avons soumis à SO^2 le pus farcineux du boudin épiploïque ou des abcès sous-cutanés, et les cultures sur gélose glycinée et sur pomme de terre.

Exp. — 24 heures : 50 grammes de S par mètre cube. — Du pus farcineux, pris sur un cobaye qui vient de succomber, est délayé dans du bouillon stérile et porté dans la chambre de sulfuration. Après l'opération, on neutralise l'acidité par du carbonate de soude stérile, et on inocule dans le péritoine de deux cobayes, qui meurent l'un au 19^e jour, l'autre au 25^e, avec toutes les lésions caractéristiques de l'affection.

Exp. — 24 heures : 60 grammes de S par mètre cube. — On inocule du pus farcineux ainsi sulfurisé, et lavé soigneusement à l'eau distillée stérile, dans le péritoine de deux cobayes. Ces deux cobayes étaient encore vivants au 60^e jour, alors que les deux témoins avaient succombé au 15^e et au 20^e jour.

Exp. — 24 heures : 60 grammes de S par mètre cube. — Une culture de farcin de bœuf sur gélose glycinée est, après sulfuration,ensemencée avec les précautions décrites, sur deux tubes de gélose glycinée. Il y a un témoin. Les trois tubes sont portés à l'étuve. Le témoin pousse; les deux autres restent stériles.

De nos expériences, nous concluons qu'à l'acide sulfureux, à la dose de 60 grammes de soufre, par mètre cube, et avec un contact de 24 heures, tue sûrement le microbe du farcin du bœuf. Au-dessous de cette dose — 50 grammes, 40 grammes — on peut détruire les cultures, mais il y a inconstance d'action.

RÉSUMÉ GÉNÉRAL.

La question des désinfectants nous apparaît aujourd'hui, comme nous l'avons dit au début, non plus comme une question

générale, mais comme une question d'espèces. Ce qu'il faut savoir, c'est si tel ou tel désinfectant convient à tel microbe déterminé et à quelle dose ?

A la question posée dans ces termes pour l'acide sulfureux, nous croyons pouvoir répondre ceci :

Les microbes étudiés par nous se classent en deux groupes :

1° L'un de ces groupes, — vibrion septique, charbon symptomatique, charbon bactérien, — résiste absolument à l'acide sulfureux et même à l'acide sulfureux dégagé à haute dose avec prolongation d'action ;

2° Les microbes du deuxième groupe, — tuberculose, morve, farcin du bœuf, fièvre typhoïde, choléra asiatique, diphtérie, — peuvent, d'une façon générale, être tués par l'acide sulfureux ; ils le sont à des doses variables, mais la dose de 60 grammes de soufre par mètre cube avec une exposition de 24 heures, dans une chambre bien close, donne une certitude absolue. C'est la dose que nous conseillons pour la pratique.

SUR UN CAS ATYPIQUE DE RAGE HUMAINE

PAR M. CH. SCHAFFER.

(Travail de la Clinique de psychiatrie de l'Université de Budapest.)

Nos observations antérieures sur la forme morbide de la rage nous ont montré une certaine typicité des symptômes. Dans le cas d'une morsure des extrémités antérieures, on voit apparaître la forme dite bulbaire de la maladie, avec augmentation considérable de l'irritabilité réflexe, qui produit les phénomènes bulbaires bien connus et si caractéristiques; dans le cas de morsure des extrémités postérieures, on voit se développer une myélite ascendante aiguë. En désaccord avec ces formes, j'ai eu l'occasion d'examiner au mois de décembre de l'an dernier un cas de rage essentiellement différent sous plusieurs points de tous les cas étudiés jusqu'ici.

Antoine L..., âgé de 28 ans, garde forestier, a été transféré le 18 décembre 1889 dans la section d'observation de l'hôpital Saint-Rochus. Il venait de la section de chirurgie, où il avait été admis le 17 décembre.

Anamnèse. Il avait été mordu le 28 décembre 1889, à l'index gauche, par un chien errant; la blessure intéressait les trois quarts de la circonférence du doigt; le patient la laissa saigner et ne recourut que le lendemain à un médecin, qui lui donna « un médicament noir ». La guérison dura 16 jours, pendant lesquels le malade put vaquer à son travail. Il n'a rien éprouvé jusqu'au 15 décembre à midi, où il eut un frisson. Le 17 décembre, il ressent des fourmillements au bras droit; sa respiration est difficile, il a des crampes au pharynx en mangeant.

État présent. Iris brun; pupille un peu dilatée, réagissant bien à la lumière. Réflexes rotuliens exaltés. Pouls à 60, à

petites ondes, quelquefois dicrote. De temps en temps des crampes de la nuque. Douleur au bras droit. Le patient est très faible et peut à peine se tenir sur ses pieds; il oscille d'une façon sensible quand il a les yeux fermés; sa marche est un peu ataxique. L'abdomen est contracté, la respiration irrégulière. Frissons permanents. La physionomie montre beaucoup d'angoisse; l'intelligence est encore conservée.

A 2 heures 30 de l'après-midi, on donne 5 milligrammes de curare au patient; il peut à peine se tenir sur ses jambes. A 6 heures du soir, il devient déjà agressif. Il se lève, va, vient et retombe bientôt.

A 8 heures du soir : pupilles très dilatées, ne réagissant ni à la lumière, ni à l'excitation acoustique. Bourrelets idiomusculaires très développés. Pas de réflexes de la peau. Pas d'hyperesthésie du nerf acoustique. Réflexes rotuliens très sensibles. Parésie des extrémités inférieures, avec conservation de la motricité grossière des muscles, salivation insignifiante.

A 10 heures du soir, le malade fait sa prière, chante, parle à sa femme et délire beaucoup; à minuit, il devient agressif.

Le 19 décembre, à 10 heures du matin, bourrelets idiomusculaires très développés; pupilles dilatées, ne réagissant pas à la lumière; salivation plus abondante; les *réflexes rotuliens* droits sont très actifs. L'excitation acoustique reste sans effet. L'insufflation en un point du corps augmente seulement un peu la dyspnée. Le pouls est à 180, il est petit, facile à interrompre. Température rectale 39°,5.

A 1 heure de l'après-midi, les réflexes rotuliens sont un peu diminués. Il est facile d'observer un peu d'euphorie chez le malade. L'excitation à la peau ne détermine qu'une faible réaction réflexe; ataxie complète, pouls fréquent.

A 4 heures du soir, réflexes abolis, forts bourrelets des muscles sous l'influence d'une excitation mécanique; pas de réflexes rotuliens. Le malade répond encore assez bien aux questions. Incontinence d'urine. Pouls très fréquent. Pupilles dilatées au maximum. L'insufflation ne détermine qu'une faible dyspnée inspiratoire. Température rectale 40°,1.

A 6 heures du soir, pupilles dilatées, sans réaction. Hyperhydrosis de la face. Salivation très active. *Le malade ne peut pas soulever son bras droit*, pendant que la motilité du bras gauche et

celle des membres inférieurs sont encore intactes. Frissons. Intelligence non troublée. Le malade respire difficilement. Température rectale $39^{\circ},8$.

Le 20 décembre à 9 heures du matin, parésie du bras droit, délires passagers; pupilles un peu dilatées, la gauche un peu plus que la droite. L'irritabilité mécanique des muscles est très grande.

A 3 heures du soir, poulx filiforme; abdomen contracté. Le malade se roule par terre. Sueurs abondantes; le corps semble pourtant froid au toucher.

A 9 heures du soir, même état; température rectale $35^{\circ},8$.

Le 21 décembre, à 9 heures du matin, corps et visage cyanosés, poulx insensible, pupilles comme hier; la pupille droite réagit encore faiblement à la lumière de la bougie. Délires; pas de réflexes. De temps en temps, dyspnée inspiratoire, salivation. Température rectale $34^{\circ},9$. Excessive irritabilité mécanique des muscles de tout le corps. Incontinence de la vessie et du ventre.

A 11 heures du matin, collapsus très marqué et salivation. Du reste, même état. Température rectale, $33^{\circ},6$. A 1 heure du soir elle est de 35° .

A 4 heures, ronchus et respiration superficielle. De temps en temps, crampes cloniques des membres inférieurs. $T = 36^{\circ},7$. A 6 heures, le collapsus a fait des progrès. $T = 37^{\circ},3$. Mort à 10 heures du soir. La température rectale est de $39^{\circ},3$ à 10 heures et quart.

La nécropsie n'a révélé qu'une hyperémie du système nerveux central.

Trois faits m'ont frappé dans ce cas de rage. C'est d'abord l'état de l'irritabilité réflexe, qui n'a pas montré la colossale exacerbation que j'avais trouvée dans tous les cas observés jusqu'ici. Les réflexes rotuliens étaient très actifs, mais l'insufflation n'amenait ni dyspnée distincte, ni les autres phénomènes réflexes; l'irritation acoustique restait sans résultat. Les pupilles n'avaient pas la mobilité réflexe ordinaire.

Le deuxième fait était l'état de la température du corps. Toutes nos observations nous ont montré qu'il n'y a pas à ce sujet de type particulier dans la rage humaine. Dans la période de prodromes, il y a une petite élévation de température, et à

l'époque de l'apparition des phénomènes spinaux, la température reste constamment fébrile ou au moins subfébrile. La marche de la fièvre n'a pas de caractère bien marqué : on peut seulement dire qu'après les exacerbations vespérales survient toujours une rémission matinale plus ou moins marquée, jusqu'au moment où une élévation de température, ordinairement excessive, annonce l'approche de la mort. J'ajoute d'autant plus d'importance à cette marche, qu'on est souvent très disposé, à cause de la variété des phénomènes qui précèdent la mort dans la rage, à croire que cette mort est prochaine, alors que le malade a encore 12 à 24 heures à vivre. Le thermomètre donne au contraire une indication rapide et sûre, et quand on le voit indiquer au moins 39° , et plus ordinairement $39^{\circ},8$, 42° , et même $42^{\circ},8$, on peut être assuré de l'approche de la mort.

Cette marche de la fièvre chez l'homme est aussi intéressante en elle-même, parce que chez les animaux, par exemple chez les lapins, le procès est tout à fait opposé. M. le Dr Löte, qui a suivi les températures des lapins inoculés de la rage, a trouvé, comme règle, que l'apparition des symptômes qui correspondent à la période que j'ai appelée spino-bulbaire ¹, se fait précisément au moment où la température diminue. D'après ses recherches, ces animaux ne présentent rien d'anormal après l'inoculation; c'est la période d'incubation latente, dont il peut apprécier la durée, à quelques heures près, au moyen du thermomètre. Vient ensuite la période de fièvre, qui pour lui est la période prodromale de la maladie, la fièvre étant elle-même le prodrome. Lorsque les premiers symptômes spino-bulbaires apparaissent, la température baisse, et sa chute indique le commencement de la rage manifeste.

C'est en cela que la marche de la fièvre chez l'homme malade de rage se différencie profondément de celle du lapin inoculé. Chez l'homme, la température s'élève continuellement jusqu'à la mort, chez le lapin elle baisse dès l'apparition de la rage et atteint quelquefois avant la mort celle de l'air ambiant. MM. di Vestea et Zagari ont trouvé, d'accord avec ces faits, qu'après infection sous la dure-mère, la température du lapin tombait dès l'apparition de la paralysie.

1. Voir ces *Annales*, t. III, p. 644.

Chez le chien, les phénomènes sont intermédiaires. La fièvre apparaît au moment où se montrent les symptômes spinaux, et en cela, elle ne ressemble pas à celle du lapin ; mais la température baisse rapidement avant la mort, et en cela elle se comporte tout autrement que chez l'homme. On a même observé chez celui-ci une élévation de température après la mort par la rage ; Peter a vu dans un cas la température monter de $1^{\circ},8$ après la mort.

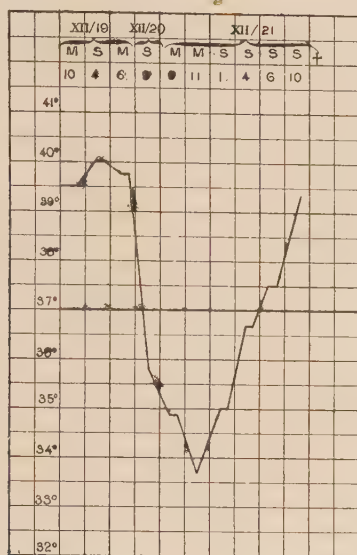


Fig. 1.

Le cas ci-dessus présente une marche anormale de la température, qui, après s'être abaissée au-dessous de la température normale et avoir atteint le chiffre bien bas de $33^{\circ},6$ est pourtant remontée ensuite et s'est élevée à $39^{\circ},4$ après la mort. Je ne connais pas, dans la littérature de la rage, d'autre exemple de cette marche de la fièvre. Comme terme de comparaison, je place ici (fig. 1) la courbe des températures du cas que j'ai étudié, et celle d'un cas régulier de rage (fig. 2) qui montre l'exacerbation classique de la température du corps avant la mort.

L'état de l'irritabilité réflexe et la marche de la température rendent déjà ce cas bien atypique. La troisième circonstance à

y remarquer est la différence de certains phénomènes bilatéraux. Dans une publication récente¹, j'ai dit que, dans certains cas de rage, les pupilles étaient inégales, et que la main mordue manifestait un tremblement plus marqué que l'autre. J'étais assez disposé d'abord à établir un rapport entre ce fait et le lieu de la morsure, d'autant plus que d'autres phénomènes bilatéraux

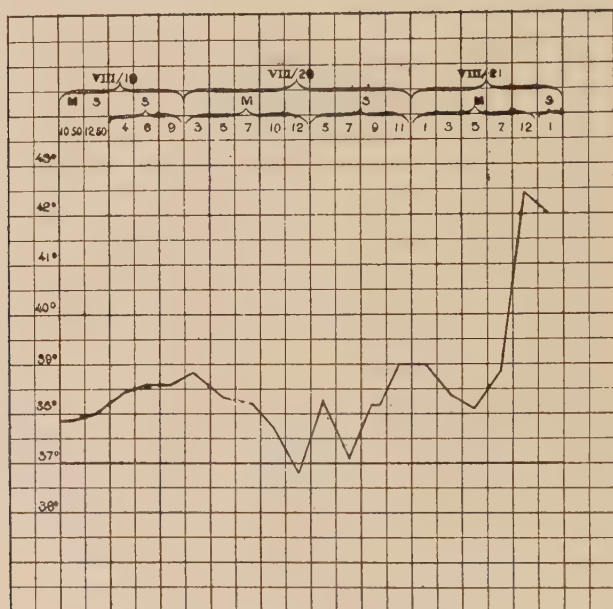


Fig. 2.

apparaissaient plus intenses du côté mordu. Dans le cas qui précède, les différences ont été si singulières que je dois y insister. La morsure a eu lieu à l'extrémité gauche : la pupille droite était moins dilatée que la pupille gauche ; les réflexes rotuliens à droite étaient plus marqués qu'à gauche ; la paralysie du membre supérieur droit a précédé d'une manière sensible celle du membre correspondant gauche.

Le cas qui précède est donc atypique non seulement au point de vue de la clinique. Il l'est encore à celui de l'histopatho-

¹ 4. Pathologie et anatomie pathologique de la rage. *Ziegler's Beiträge*, etc., t. VII.

logie. Mes recherches sur l'histopathologie de la rage m'ont montré que le segment de la moelle qui présente la névrose la plus marquée est toujours celui qui est en relation nerveuse directe avec le lieu de la blessure. Dans le cas d'une lésion au membre supérieur, c'est le segment cervical; dans le cas d'une infection du membre inférieur, c'est la portion lombaire qui présente les plus graves altérations. Dans le cas ci-dessus, c'est le membre supérieur qui a été mordu et il résulte de l'étude histologique que la moelle était *également enflammée dans toute sa longueur*; le seul point à signaler, c'est que le segment cervical, avant et après durcissement, avait une consistance un peu plus molle que les autres parties de la moelle.

Je n'ai pas l'intention d'entrer plus avant dans l'étude histopathologique de ce cas, ayant développé suffisamment dans d'autres publications l'histologie de la rage. Je ne ferai plus qu'une remarque, c'est qu'outre l'infiltration régulière de toute la moelle et de la moelle allongée, on pouvait remarquer une dégénérescence granuleuse très prononcée du noyau des cellules nerveuses. Les vaisseaux montraient une riche infiltration adventitielle: çà et là, de préférence dans le canal central et dans la *fovea rhomboïdea*, on voyait des hémorragies capillaires; à l'intérieur du canal central, se montraient de petits îlots de ramollissement.

SUR LA VIRULENCE DE LA BACTÉRIDIE CHARBONNEUSE APRÈS PASSAGE CHEZ LE CHIEN ET CHEZ LE LAPIN VACCINÉ,

PAR LE D^r MALM, DE L'UNIVERSITÉ DE CHRISTIANIA.

(Travail du laboratoire de M. Roux à l'Institut Pasteur.)

Parmi les nombreuses questions de pathologie générale que soulève l'étude des microbes, et dont quelques-unes sont en train de devenir insensiblement des vérités démontrées sans avoir été soumises à un examen rigoureux, se trouve le problème de la virulence après le passage du virus par un animal réfractaire.

Certains auteurs admettent que la virulence s'atténue par le passage sur un animal réfractaire, et cette hypothèse est devenue une doctrine consignée dans les Traités d'hygiène. Ainsi, M. Flugge ¹ indique, parmi les méthodes pour atténuer un virus et obtenir un vaccin, l'inoculation à un animal réfractaire.

En étudiant ce qui a été écrit à ce sujet, on s'explique facilement comment cette idée, bien que non prouvée, a été admise dans la science. On a commencé par interpréter certaines expériences douteuses en admettant que la virulence diminue chez un animal résistant; puis, d'autres savants ont trouvé le fait plausible, et d'autres l'ont cité comme démontré. Souvent, des citations fausses prouvent que celui qui écrit ne connaît pas le travail original et n'est pas remonté aux sources.

C'est dans un travail de M. OEmler qu'on trouve le point de départ de cette hypothèse. Dans ses expériences sur le charbon

1. *Grundriss d. Hygiene*. Leipzig, 1889, p. 511.

des oiseaux, M. Oemler ¹ trouve que le sang frais d'oiseaux morts charbonneux ne se montre pas virulent pour d'autres animaux. Bien qu'il ait constaté qu'il n'en était pas toujours ainsi pour le sang des poulets et des canards charbonneux, il n'en posa pas moins comme conclusion que les bactériidies s'atténuent dans le corps des oiseaux, et que les microbes changent de propriétés physiologiques en passant par un animal réfractaire. Quand on lit le travail de M. Oemler, on est surpris de la facilité avec laquelle il donne le charbon aux poules; il est en effet bien établi aujourd'hui que ces animaux sont très résistants au charbon; s'ils succombent en si grand nombre dans les expériences de M. Oemler, c'est sans doute que l'auteur les inocule avec le sang d'animaux charbonneux morts depuis un temps assez long. Dans ces conditions, M. Oemler a souvent produit soit la septicémie, soit le charbon et la septicémie mélangés, ce qui explique le peu de concordance des résultats; les conclusions de M. Oemler ne peuvent donc pas être admises, puisqu'il a employé des virus impurs.

M. Kitt ² prétend que le charbon s'affaiblit en passant par le pigeon, acquiert ainsi les propriétés d'un second vaccin Pasteur, et serait même un peu plus faible que lui. En inoculant directement aux animaux le liquide de l'œdème pris sur les oiseaux, il a trouvé que dans quelques cas ceux-ci (un lapin, un mouton vacciné par le 1^{er} vaccin, et un mouton non vacciné) ne mouraient point.

De même M. Frank ³ a trouvé qu'après un jour, l'œdème charbonneux des rats ne tuait plus; les bactériidies n'étaient cependant pas mortes dans cet œdème, puisque après deux jours il donnait encore des cultures. M. Frank n'hésite pas à conclure que la virulence de la bactériдие charbonneuse se perd plus vite que la propriété de croître dans des milieux inertes.

Les expériences récentes de M. Metchnikoff ⁴, contrairement à celles de MM. Kitt et Frank, prouvent que le virus charbon-

1. Contribution expérimentale à la question du charbon. *Archiv. f. Wiss. und prakt. Thierheilk.*, 1877, p. 237.

2. Quelques renseignements sur le charbon des oiseaux. *Deutsch. Zeitschr. f. Thiermed. u. vergleich. Pathol.*, 1886, p. 85.

3. Sur le sort des bacilles charbonneux dans le corps des animaux. *Centralbl. f. Bact.*, 1888, nos 23 et 24.

4. Sur l'immunité, II. *Ces Annales*, 1890, p. 63.

neux qui a passé par les pigeons et les rats n'est pas atténué, qu'il est, au contraire, plus actif sur les cobayes. MM. Kitt et Frank ont commis la faute d'injecter directement l'œdème pris chez les oiseaux et chez les rats ; or, les bactériidies sont souvent très rares et dégénérées dans ces œdèmes, ce qui explique les résultats obtenus, sans qu'il soit besoin d'invoquer une perte de la virulence.

M. Lubarsch ¹ annonce que les bactériidies introduites dans le sac lymphatique de la grenouille y restent vivantes jusqu'au dixième jour, mais qu'elles ont perdu leur virulence dès le troisième jour, de sorte que leur culture sur gélose ne tue ni les souris, ni les cobayes, ni les lapins. Le même affaiblissement a été constaté chez les bactériidies après qu'elles ont séjourné dans le corps de lapins rendus réfractaires au charbon.

M. Petruschky ² observe aussi que le bacille charbonneux s'atténue sensiblement au bout de 5 à 25 heures passées dans le corps d'une grenouille. Les souris inoculées avec la lymphé de cette grenouille, ou ne mouraient pas, ou ne périssaient que deux jours et demi à quatre jours après l'inoculation.

M. Nuttall ³ contredit les résultats de MM. Lubarsch et Petruschky : il a vu, en effet, que les bactériidies peuvent vivre sous la peau des grenouilles jusqu'à 16 jours après l'inoculation, mais il n'a jamais constaté d'atténuation chez ces bactériidies.

MM. Emmerich et di Mattei ⁴ injectent sous la peau d'un lapin vacciné contre le rouget une culture du bacille de cette maladie. Dix minutes après, ils excisent le tissu sous-cutané au point de l'injection : les morceauxensemencés dans du bouillon ne donnent une culture appréciable qu'après 48 heures. Les auteurs concluent à un affaiblissement considérable des microbes inoculés. M. Metchnikoff, dans ces *Annales*, a réfuté l'assertion de MM. Emmerich et di Mattei ; aussi est-on surpris de voir

1. Sur l'atténuation du bacille charbonneux dans le corps de la grenouille. *Fortschr. d. Med.*, 1888, n° 4.

2. Recherches sur l'immunité de la grenouille contre le charbon. *Ziegler's Beiträge*, 1888, t. III, p. 358.

3. Recherches sur l'influence bactéricide du corps des animaux. *Zeitschr. f. Hyg.*, 1888, t. IV, p. 353.

4. Recherches sur les causes de l'immunité acquise. *Fortschr. d. Med.*, 1888, n° 49.

M. *Finger*¹ affirmer que la diminution de la virulence par passage sur un animal réfractaire a été démontrée par MM. Frank, Petruschky et Lubarsch pour le bacille charbonneux, par MM. Emmerich et di Mattei pour le *coccus de l'érisypèle*, tout en renvoyant au travail de ces derniers savants, qui traite en réalité du bacille du rouget.

M. *Finger* pense avoir démontré l'atténuation du virus de la morve par le même procédé. Il rapporte le cas de deux cobayes, morts l'un le vingtième jour, et l'autre le trente-cinquième jour après l'inoculation de cultures sur gélose, vieilles de plusieurs jours, et provenant de bacilles puisés au point d'inoculation chez une souris, 16 heures et 24 heures après l'inoculation.

Des expériences qu'il a faites sur le charbon des chiens, M. *Sadowsky*² tire les deux conséquences suivantes : 1° le virus charbonneux s'atténue chez le chien ; 2° le virus se renforce en dehors de l'organisme par culture dans le bouillon. Voici les expériences sur lesquelles ces conclusions sont fondées. Avec la bactériidie empruntée à un mouton mort du charbon naturel, il inocule un cheval hongrois âgé de 3 ans, et un chien, qui meurent tous deux du charbon. Le sang de ce chien, qui n'était pas réfractaire, estensemencé dans du bouillon. La culture, inoculée d'abord à un mouton, puis à deux autres, ne les tue pas. De là, conclusion que le virus est atténué. Avec la même culture, on inocule ensuite 11 moutons, dont 9 meurent du charbon. De là, conclusion que le virus s'est renforcé dans le bouillon. Les deux expériences ne sont évidemment pas comparables ; de plus, les moutons ont été pris au hasard dans le troupeau d'un grand propriétaire qui fait vacciner ses animaux ; on peut donc se demander si les quatre premiers moutons n'étaient pas vaccinés.

Ajoutons que M. *Pourquier*³ croit avoir affaibli le virus de la clavelée au moyen d'inoculations successives sur un même mouton. Les pustules provenant des dernières piqûres contiennent, d'après lui, un virus atténué qui, inoculé à des moutons non vaccinés, leur confère l'immunité.

1. Sur la question de l'immunité et des phagocytes dans la morve. *Ziegler's Beiträge*, 1888, t. XI, p. 373.

2. Sur une des conditions qui renforcent la virulence des cultures atténuées du *bacillus anthracis*. *Compte rendu des travaux spéciaux de l'institut vétérinaire à Karkhoff*, 1888, publié en 1889.

3. *Comptes rendus Acad. des Sciences*, 1888.

Enfin, M. *Galtier*¹ soutient que le virus morveux s'atténue lorsqu'il est inoculé à plusieurs reprises à un chien. Ainsi, des ânes infectés par le virus d'un chien inoculé pour la 3^e, 4^e et 5^e fois, ne moururent qu'au bout de trois semaines à un mois. La maladie dura plus longtemps que s'ils avaient reçu d'emblée le virus de cheval ou celui d'un chien inoculé pour la première fois.

Tels sont les faits sur lesquels repose la doctrine qui veut qu'un microbe pathogène, introduit dans l'organisme d'un animal réfractaire, perde sa virulence avant de périr. On voit qu'à peine énoncés ils ont été pour la plupart contestés. D'ailleurs, à côté des assertions favorables à la doctrine, on en trouve qui la combattent. C'est ainsi que, d'après M. *Straus*², M. Mounoury a déjà établi que l'œdème de la pustule maligne chez l'homme, être évidemment assez résistant au charbon, ne donne pas toujours un résultat positif quand on l'inocule aux moutons et aux lapins, tandis que l'insertion, sous la peau des animaux, de l'escarre entière, excisée, donne presque infailliblement le charbon. L'Association médicale d'Eure-et-Loir a montré, de son côté, que la pustule maligne de l'homme, introduite dans le tissu cellulaire d'un mouton ou d'un lapin, le fait mourir du charbon en 48 heures. M. *Perroncito* inocula une poule du charbon et la sacrifia quatre jours après. Au point d'inoculation, il trouva un kyste formé par un épanchement de sang, et contenant un grand nombre de bactériidies qui firent périr les cobayes auxquels on les inocula. D'après une communication verbale qui m'a été faite par M. Roux, le microbe du choléra des poules le plus virulent qu'on ait observé au laboratoire de M. Pasteur, venait d'un coq vacciné, qui succomba à la maladie plus d'un mois après avoir mangé un repas infectieux.

A l'instigation de M. Roux, j'ai entrepris une série d'expériences pour essayer de résoudre cette question controversée. Je me suis attaché à savoir ce que devenait la virulence de la bactériдие du charbon après son passage sur le chien, animal réfractaire à cette maladie.

1. Inoculation de la morve au chien. *Comptes rendus Acad. des Sc.*, 1881, t. 92, p. 303.

2. *Le charbon*. Paris, 1887.

I

Il faut, avant tout, s'entendre sur les principes qui doivent présider à des recherches de ce genre. La virulence de la bactériidie avec laquelle on commence les expériences doit d'abord être bien connue. En second lieu, il ne faut pas faire les inoculations avec l'œdème, ou les humeurs de l'animal réfractaire, car en général cet œdème est pauvre en microbes, et il peut arriver, il arrive même souvent qu'il n'y en pas dans la petite quantité inoculée. Il est nécessaire de faire des prises en plusieurs points de l'œdème, d'ensemencer dans du bouillon et d'inoculer la culture jeune. Parfois, on n'a de culture visible qu'après 48 heures, ce qui indique que les bacilles étaient rares dans la semence, mais non pas qu'ils y sont atténués. Il y a plus : le liquide d'inoculation doit être exempt de bacilles dégénérés ; aussi ne doit-on pas employer de cultures anciennes. Dans nos expériences, nous nous sommes servis, soit de sang charbonneux frais, riche en bactériidies, soit de cultures récentes. Pour juger de la virulence des bactériidies, nous avons inoculé des lapins, en ayant soin de les choisir à peu près de même poids. Le charbon était regardé comme d'autant plus actif qu'il les faisait périr plus vite.

Le chien est très réfractaire au charbon, c'est ce qui résulte des travaux de MM. Bardach, Böllinger, Fränkel, Cœmler, Hess, Straus, et des miens.

Les 24 chiens qui ont servi à mes expériences ont été pris à la fourrière. Presque tous étaient adultes ; il y en avait même de vieux ; 3 seulement étaient jeunes. 7 ont été inoculés sous la peau, un seul (un chien noir) est mort ; 17 ont été injectés dans les veines, 7 ont succombé. Les doses employées ont varié de 1^{cc} à 50^{cc}.

La mort causée par le charbon survenait, en général, du 3^e au 6^e jour. Chose singulière, sur les 8 chiens qui ont péri, 6 étaient noirs. Les deux autres, jaunes, ne moururent que le sixième jour ; chez l'un d'eux on ne trouva plus de bactériidies : l'autre avait reçu, la veille, dans les veines, 50^{cc} d'une émulsion de charbon de bois à raison de 5 grammes de charbon pour 100 grammes d'eau. Deux chiens noirs se sont montrés réfrac-

taires, mais ils ont été beaucoup plus malades que les autres qui ont résisté. En résumé, sur 24 chiens, 8 étaient noirs, ils ont donné 6 morts ; 16 avaient des robes de couleurs variées, ils ont donné 2 morts.

La culture charbonneuse dont je me suis servi a été essayée par quatre passages successifs sur des lapins ; elle les a tués en 72, 72, 92 et 52 heures. Elle faisait périr les cobayes en 36 heures. C'était donc un charbon de virulence ordinaire.

Inoculations sous-cutanées. — Un chien inoculé sous la peau présente un œdème plus ou moins considérable, qui a généralement disparu au bout de 8 jours. Cet œdème est transparent, jaune clair, et montre au microscope beaucoup de leucocytes. Il ne se forme pas de pus, à moins qu'il ne s'introduise des microbes étrangers. D'ordinaire, on ne trouve plus de bâtonnets dans l'œdème après le deuxième jour ; dans un seul cas, l'œdème donna une culture 96 heures après l'infection. Celle-ci amène toujours de la fièvre, et la température, chez l'animal réfractaire, peut dépasser 42°. Lorsqu'un chien a résisté une première fois, soit à une inoculation sous-cutanée, soit à une inoculation intra-veineuse, son immunité naturelle est assez augmentée pour qu'une inoculation nouvelle ne cause ni fièvre, ni œdème. Le virus introduit sous la peau disparaît sans donner lieu à aucune réaction.

D'après les expériences, que nous rapportons en détail à la fin de ce mémoire, on voit qu'un virus charbonneux, qui tuait les lapins en 72 heures environ, les fait périr plus vite quand il s'est développé sous la peau du chien. Les bactériidies puisées dans l'œdème, sur des chiens réfractaires, après un temps qui a varié de 21 à 96 heures, ont donné des cultures toujours mortelles pour les lapins. Ceux qui ont péri le plus rapidement ont succombé en 23 heures, et ceux qui ont résisté le plus étaient morts après 74 heures. De sorte que la moyenne de la survie chez 16 lapins, inoculés avec du charbon passé par le chien, était de 42 heures. Il est donc évident que la bactériodie n'a pas été atténuée par son passage sur un animal réfractaire ; au contraire, elle a été manifestement renforcée. Cette augmentation de virulence est également sensible sur les cobayes, qui périssaient en 27 à 30 heures.

Les bactériidies sont peu nombreuses dans l'œdème, il faut

faire parfois plusieurs préparations microscopiques avant d'en rencontrer; elles étaient abondantes dans un seul cas. On comprend donc la nécessité de faire des cultures de cet œdème avant l'inoculation. L'injection aux animaux, d'un liquide aussi pauvre en bacilles, resterait le plus souvent sans résultat, et conduirait à des interprétations erronées. Les bactéridies contenues dans l'œdème sont bientôt, pour la plupart, englobées par les leucocytes. J'ai rencontré des cellules blanches véritablement remplies de bâtonnets. Parmi ces bacilles englobés, les uns prennent encore bien les matières colorantes, mais le plus grand nombre se colorent mal et seulement par zones; ils sont gonflés et dégénérés. Les bactéridies sont enfermées dans le protoplasma des cellules phagocytes (macrophages et microphages), et jamais dans les noyaux. Dans l'œdème du chien, les bacilles ne tardent pas à périr; après 48 heures et quelquefois plus tôt, lesensemencements restent d'ordinaire stériles. Cependant, nous avons obtenu une fois une culture après 96 heures.

Inoculations intraveineuses. — On observe le même renforcement de la virulence si on fait pénétrer le virus charbonneux dans les veines des chiens, et si on le reprend ensuite soit dans le sang, soit dans la rate. Il va sans dire que, dans toutes nos expériences, les inoculations ont été faites avec des cultures pures, et que l'on s'est assuré chaque fois, par l'examen microscopique et l'ensemencement, que la mort des animaux était due au charbon. Pour puiser du sang chez un animal inoculé, nous avons toujours choisi une veine autre que celle qui avait reçu l'injection, et nous retirions une quantité de sang suffisante pour assurer autant que possible le succès de l'ensemencement.

La plupart des chiens résistent à l'injection du charbon dans les veines; cependant ce mode d'inoculation est plus meurtrier pour eux que l'inoculation sous la peau. Sur 17 chiens qui ont reçu du charbon dans les veines, 7 ont succombé (6 étaient noirs); 10 étaient réfractaires.

Chez les *chiens réfractaires*, les bacilles ne pullulent pas dans le sang; lesensemencements du sang faits 24 heures après l'injection ont tous été stériles, excepté dans un cas. Aucune des prises de sang pratiquées après un temps plus long n'a donné de cultures. Les bactéridies sont très rapidement détruites dans l'organisme des chiens réfractaires; lorsqu'on sacrifie les ani-

maux, le troisième ou le quatrième jour après l'injection intra-veineuse, on ne trouve aucune lésion des organes : la rate est ferme, non augmentée de volume, et l'examen au microscope de la pulpe de la rate et du foie ne montre pas de bacilles. Je n'en ai pas trouvé davantage dans les coupes colorées de ces organes. Souvent même on peut semer des quantités considérables des substances hépatique et splénique sans avoir de développement. Ainsi, chez des chiens sacrifiés 49, 72 heures et 3 jours après l'injection dans les veines, la rate et le foie ne donnèrent pas de cultures. Dans d'autres cas, au contraire, j'ai obtenu des cultures en multipliant les ensemencements de la rate et du foie de chiens réfractaires, sacrifiés 71, 76 heures et 3 jours après l'inoculation intra-veineuse. Ces cultures se montrèrent très actives sur les lapins, puisqu'elles les firent périr du charbon dans un temps qui a varié de 21 à 44 heures. Sur 5 lapins, inoculés avec ces bactériidies puisées chez des chiens réfractaires, la moyenne de la survie a été de 32 heures. Il y a donc une exaltation notable de la virulence lorsque le charbon passe par l'organisme du chien, qu'il ait été introduit sous la peau ou injecté dans les veines. Les chiens, qui ont résisté à une première inoculation dans le sang, ont leur immunité renforcée, au point qu'une deuxième introduction de charbon dans la circulation ou dans le tissu sous-cutané ne produit chez eux aucun effet, ou provoque seulement un malaise passager.

Chez les *chiens non réfractaires* au charbon (nous rappellerons que les chiens noirs manifestent une réceptivité particulière), l'élévation de la température s'accompagne de tristesse, de dyspnée, de diarrhée, et parfois de pissement de sang. La mort survient en général du 3^e au 6^e jour. Les lésions sont : une augmentation de volume du foie et de la rate, qui sont congestionnés ; un épanchement séro-sanguinolent dans le péricarde ; des suffusions sanguines dans le muscle cardiaque ; de la congestion des reins et de la muqueuse de l'intestin grêle, dont le contenu renferme du sang. Dans le sang des chiens qui prennent le charbon, on trouve, par ensemencement, des bactériidies 24 et 48 heures après l'inoculation.

Elles sont même quelquefois assez nombreuses pour être décelées par l'examen microscopique. Lorsque la mort survient rapidement (le troisième jour par exemple), le sang, le foie, la

rate, l'épanchement péricardique, sont riches en bacilles comme chez le lapin ou le cobaye mort du charbon. Mais si le chien ne succombe qu'après un temps plus long, les bactériidies sont plus rares; on peut n'en pas trouver au microscope. Chez deux chiens qui moururent l'un le cinquième, l'autre le sixième jour après l'infection, ni le sang, ni la pulpe du foie ni celle de la rate ne fournirent de cultures. Dans ces cas, les animaux paraissaient avoir succombé à une véritable intoxication¹, puisqu'au moment de leur mort il n'y avait plus dans leurs organes de bactériidies vivantes.

La virulence de la bactériidie qui a fait périr un chien n'est pas diminuée pour le lapin. Les cultures, obtenues par l'ensemencement du sang ou de la pulpe du foie et de la rate des chiens qui ont pris le charbon, ont tué les lapins dans un temps qui a varié de 30 à 99 heures. Il semble que le passage par des chiens non réfractaires renforce moins la bactériidie que le passage par des chiens tout à fait résistants. Ainsi, la moyenne de la survie de 23 lapins, inoculés, soit directement avec le sang ou la pulpe des organes des chiens charbonneux, soit avec les cultures qui en proviennent, a été de 46 heures, comme si le renforcement était d'autant plus marqué que la bactériidie éprouve plus de résistance à son développement et qu'elle a à lutter davantage.

Puisque le charbon augmente de virulence par son passage à travers le chien, ne pourrait-on pas l'amener graduellement à un degré d'activité tel qu'il tuerait les chiens à tout coup? M. Straus a observé que les chiens nouveau-nés prennent plus facilement le charbon que les adultes, et M. Bardach a trouvé que les chiens dératés étaient beaucoup moins résistants à l'inoculation dans les veines que ceux qui ont conservé leur rate. Il serait peut-être possible, en faisant passer la bactériidie par de jeunes chiens, puis par des chiens plus âgés, ou encore en l'inoculant à des chiens dératés, d'obtenir un virus mortel pour les chiens adultes. J'ai essayé d'atteindre ce résultat en faisant des passages de chien à chien; lorsque un des animaux de la série paraissait se rétablir, je le sacrifiais et je continuais l'expérience en injectant, dans le sang du chien suivant, la culture

1. Nous ne pouvons accepter l'opinion de M. Arloing, à savoir que les chiens sont très sensibles à la toxine charbonneuse.

obtenue avec les organes. En procédant ainsi, je n'ai pas réussi à préparer une bactériémie donnant à coup sûr la mort aux chiens. Je reprendrai ces essais en utilisant la réceptivité particulière des jeunes chiens.

M. Bardach dit que les chiens périssent facilement lorsqu'on leur injecte des bactéries dans le sang, après leur avoir introduit dans la circulation une émulsion de charbon de bois. J'ai répété cette expérience ; un chien de forte taille, très vigoureux, a succombé au charbon après l'injection d'une dose relativement faible (2^{cc}) d'une culture de bactérie dans les veines ; il avait reçu la veille, dans le torrent sanguin, 50^{cc} d'une émulsion de charbon de bois. L'émulsion était stérile, elle contenait des particules si ténues que son introduction dans la circulation était sans danger. L'explication de cette action singulière d'un corps inerte comme le charbon de bois est sans doute dans ce fait, que les leucocytes absorbent très activement les parcelles charbonneuses, et que leur réplétion les empêche d'englober les bactéries, qui croissent alors sans obstacle. Quoi qu'il en soit, il est certain que l'injection préalable de l'émulsion de charbon de bois favorise l'infection. Cependant, si l'immunité du chien a été renforcée auparavant par une ou plusieurs inoculations charbonneuses, l'introduction de la bactérie dans les veines ne le fait pas périr, lors même qu'elle est précédée de celle de l'émulsion de charbon de bois (Voyez l'expérience n° 22).

Bien que je n'aie pas fait une étude spéciale de la phagocytose dans le charbon du chien, j'ai pu me convaincre que le sang des animaux infectés contenait beaucoup plus de leucocytes que celui des animaux sains, et que la destruction des bactéries était très active, surtout chez les sujets réfractaires. M. Hess indique que chez les chiens, les phagocytes dévorent si vite les microbes que, déjà après 24 heures, on en cherchait vainement dans les organes. Pour ma part, dans un cas, je n'ai pu trouver de bactéries dans les coupes du foie et de la rate d'un chien sacrifié 48 heures après l'inoculation dans les veines. Chez un chien qui a succombé au charbon le troisième jour, les coupes du foie montraient par places des bactéries toutes contenues dans les phagocytes. Dans d'autres endroits, à côté de bacilles englobés, on en voyait aussi de libres. Jamais les cellules du foie proprement dites ne renferment de bactéries. L'examen de ces pré-

parations donnait l'idée d'une lutte très active entre les bactéridies et les leucocytes. Les bacilles ainsi englobés ne tardent pas à prendre un aspect gonflé, et à présenter des signes de dégénérescence, ce qui explique que les ensemencements des œdèmes ou des organes qui renferment des bacilles ayant ces apparences sont souvent inféconds. Il ne faut pas confondre la diminution de la vitalité des bactéridies avec l'affaiblissement de la virulence; les bactéridies qui ont subi l'action des phagocytes peuvent, quand on les transporte dans un milieu de culture, ne pousser qu'après un long retard, sans que l'on en puisse conclure qu'elles sont atténuées. MM. Metchnikoff et Haffkine ont prouvé expérimentalement que les leucocytes englobent des bacilles vivants, et que, tant que ceux-ci n'ont pas péri, ils ont toute leur virulence.

II

Le même fait de l'augmentation de la virulence, s'observe aussi pour les bactéridies qui ont vécu quelque temps, non plus chez un animal naturellement résistant comme le chien, mais chez un animal sensible comme le lapin, après qu'on l'a rendu artificiellement réfractaire. J'ai vacciné un lapin contre le charbon par la méthode de MM. Chamberland et Roux, et je me suis assuré, en lui inoculant le charbon, qu'il avait l'immunité. J'ai alors introduit sous sa peau un fil de soie chargé de spores de bactéridies. Ces spores provenaient d'une culture qui tuait les lapins en 50 heures. Le lendemain, à l'endroit où les fils étaient insérés, il y avait de l'œdème. Cet œdème, ensemencé 22 heures après l'inoculation, donna une culture qui fit périr un lapin en moins de 40 heures. Le fil de soie fut retiré 48 heures après l'inoculation, et semé dans du bouillon. La culture ainsi obtenue tua un lapin en 30-36 heures. On s'assura encore à la fin de l'expérience que l'immunité du lapin vacciné était solide. Il supporta, en effet, sans aucun malaise, l'inoculation d'un charbon très virulent venant du chien.

III

De ce que nous venons de dire, il résulte que la bactéridie qui a vécu chez un animal réfractaire n'a pas perdu sa virulence, que celle-ci, au contraire, paraît exaltée. L'opinion opposée n'est

pas fondée¹. Cela était, d'ailleurs, à prévoir, si l'on se rappelle que le moyen le plus efficace de donner de la virulence à un microbe consiste à l'inoculer successivement à des animaux de plus en plus résistants.

Si la virulence est, en partie, la propriété des microbes de former des substances toxiques chez les êtres vivants, ils conservent cette faculté quand on les introduit chez des sujets naturellement ou artificiellement réfractaires. En effet, tous les chiens et le lapin vacciné que j'ai inoculés du charbon ont eu de l'œdème et de la fièvre. Il aurait été bien surprenant de voir cesser cette faculté toxigène quand la bactériémie est transportée d'un terrain peu favorable dans un autre qui lui est mieux approprié.

Ce n'est que lorsque l'immunité a été portée au maximum par des inoculations antérieures qu'une nouvelle introduction de virus est tout à fait sans effet.

Un virus peut donc, sans s'affaiblir, séjourner dans l'organisme d'un animal peu sensible à son action; bien plus, il pourra s'y renforcer; de sorte que s'il vient à pénétrer chez des êtres doués de réceptivité, il sera pour eux plus dangereux qu'avant.

Conclusions :

1° La bactériémie du charbon ne s'atténue pas par passage dans un animal naturellement réfractaire (chien) ou rendu artificiellement résistant (lapin).

2° La bactériémie, en passant par un animal réfractaire, se renforce, et dans une mesure parfois assez grande.

3° Cette exaltation de la virulence se fait, tant dans l'œdème produit par une inoculation sous-cutanée, que dans le sang et la rate, après une injection intra-veineuse.

4° Chez les chiens non réfractaires, l'augmentation de virulence est irrégulière.

5° Il n'y a pas d'augmentation de virulence dans les cultures en bouillon.

6° Aucun des chiens de nos expériences ne s'est montré absolument réfractaire au charbon.

7° Une injection antérieure, par voie sous-cutanée ou intra-

1. MM. Pasteur et Thuillier nous ont appris que le virus du rouget qui a passé par le lapin est devenu moins meurtrier pour le porc. Ce résultat n'est pas en contradiction avec les nôtres. Car, dans le cas du rouget, le lapin n'est pas un animal réfractaire, il est même plus sensible à la maladie que le porc.

veineuse, renforce l'immunité du chien jusqu'à la rendre absolue.

8° La résistance des chiens à l'inoculation intra-veineuse est moindre qu'à l'inoculation sous-cutanée.

9° Les chiens noirs sont beaucoup moins réfractaires au charbon que les autres.

10° Certains chiens succombent à la suite de l'inoculation du charbon, sans qu'on trouve de bactéridies à l'autopsie.

11° Chez les chiens absolument indemnes, les bactéridies ont disparu déjà après 18 heures. On les retrouve après 24 heures dans le sang, et après 3 jours dans la rate, chez les chiens qui ont l'immunité naturelle.

RÉSUMÉ DES EXPÉRIENCES

EXP. I. — Chien n° 1, adulte noir, poids 45,9^k. Inoculé le 10 février à 5 heures du soir, sous la peau de la cuisse, avec le sang du cœur du lapin n° 8, mort du charbon 50 heures après l'infection.

Le	10	11	12	13 fév.
Temp ^{re}	40.6	41.1	40.7	41.6

OEdème, diarrhée et convulsions. Mort le 14, entre 7 et 8 heures du matin.

Autopsie. — Au point d'inoculation, œdème s'étendant jusque sous le ventre. Rate et foie hyperémiés. La rate n'est pas augmentée de volume, elle est assez ferme.

44 heures après l'inoculation, on a puisé un peu de liquide de l'œdème, qui est peu riche en bâtonnets, puisqu'on n'en trouve pas sur deux préparations examinées au microscope. Ensemencé dans du bouillon, cet œdème donne une culture qui fait périr les lapins (12 et 13) en 40 heures.

Du liquide de l'œdème, recueilli après la mort du chien, est injecté à des lapins qui n'éprouvent aucun mal; semé dans du bouillon, il ne donne pas de culture. Le sang du cœur donne une culture qui tue le lapin (13) en 76 heures. Sur plusieurs coupes colorées de la rate, on n'a pas vu de bactéridies.

EXP. II. — Chien n° 2. Adulte brun, poids 44,8^k. Inoculé comme le précédent.

Le	10	11	12	13	14	15	17	18 fév.
Temp ^{re}	40.6	40.3	41.7	39.9	41.8	40.8	39.9	39.4

Ce chien a eu un fort œdème, mais s'est rétabli.

21 heures après l'infection, l'œdème montre au microscope beaucoup de bactéridies : les unes prennent bien la couleur, les autres sont granuleuses et se colorent mal. Beaucoup de leucocytes contiennent des bacilles dans leur intérieur. Parmi les bâtonnets ainsi englobés, les uns se colorent bien,

les autres sont peu teintés et manifestement dégénérés. Il y a plus de bactériidies libres que de bactériidies dans les cellules. L'œdème de 21 heures donne une culture qui, inoculée à un lapin (n° 9), le fait mourir en 36 heures.

L'œdème, pris 41 heures après l'injection, contient des bacilles libres et des bacilles dans les cellules. Un leucocyte en est absolument rempli. Les bactériidies qui sont dans l'intérieur des cellules sont mal colorées et dégénérées. Cet œdème ne donne pas de culture.

Le 6 mars, le chien est tout à fait bien portant; on l'inocule de nouveau par injection, dans la chambre antérieure de l'œil, de spores charbonneuses, suspendues dans de l'eau. Ces spores, provenant d'une culture faite avec le sang d'un chien charbonneux, ont été chauffées à 68° pendant une demi-heure. Les jours suivants, il se produit un hypopion qui se résorbe bientôt et a disparu le 11 mars. La température de l'animal reste le 6 et le 7 mars à 39.7; elle monte le 8 à 39.9 et le 10 à 40.0. L'humeur aqueuse de l'œil inoculé futensemencée sans résultat; il est vrai que l'on n'a pas aspiré le liquide de l'hypopion. Le 11 mars ce chien est sacrifié. On ne trouve à l'autopsie aucune lésion.

Exp. III. — Chien n° 3. Adulte blanc, poids 5^k. Inoculé le 17 février, à 2 h. 30 du soir, sous la peau de la cuisse, avec le sang du lapin 13. (Voir Exp. I.) Mort en 76 heures.

Ce chien a de l'œdème le 18 février. Une petite quantité du liquide de l'œdème estensemencée le 18 février à 10 heures du matin; elle ne donne pas de culture. Dans 6 préparations du liquide de l'œdème on ne trouve qu'une bactériдие.

Le	17	18	19	20	21	22	24	25 fév.
Temp ^{re}	39.9	41.8	41.3	41.3	39.4	39.1	39.0	39.0

Exp. IV. — Chien n° 4. Agé de 2 à 3 ans, blanc tacheté de brun. Poids 5^k. Inoculé le 18 février, à 10 h. 30 du matin, sous la peau de la cuisse, avec une culture du sang du chien n° 1, qui a tué le lapin 13 en 76 heures.

Le lendemain le chien a de l'œdème. Une prise faite dans l'œdème, 48 heures après l'inoculation, donne une culture qui tue le lapin 16 en 60 heures. L'œdème puisé le 21 ne montre aucune bactériдие au microscope et ne se cultive pas. Le 22, nouvelle prise; on fait trois préparations: l'une contient 8 bâtonnets libres et bien colorés, et deux cellules renfermant des bacilles. Cette prise,ensemencée, donna deux cultures qui tuèrent le lapin 17, pesant 1,920 grammes, en 23-25 heures, et un cobaye en 27 heures. La culture inoculée au cobaye contenait quelques streptocoques, mais dans le sang du cobaye on ne voyait que des bactériidies. Ce sang tua le lapin 14 en 22-23 heures. Le sang de ce lapin fournit une culture qui tua le lapin 18 en 66 heures et le lapin 19 en 40 heures.

Lesensemencements faits plus tard avec l'œdème du chien restèrent stériles. La peau se gangréna au point d'inoculation sous l'action de microbes étrangers.

Le	18	19	20	21	22	24	25	27 fév.	1 ^{er} mars.
Temp ^{re}	40.6	40.0	40,0	40.7	40.7	41.5	40.7	40.4	40.7

L'animal fut sacrifié le 1^{er} mars, on ne trouva aucune lésion; le sang et les organesensemencés ne donnèrent pas de culture.

Exp. V. — Chien n° 5. Jaune, âgé de 2 à 3 ans. Poids 6,1^k. Inoculé le 3 mars, à 10 heures du matin, sous la peau de la cuisse, au moyen d'un fil de soie, chargé de spores venant d'une culture obtenue avec le sang du lapin n° 8. (V. Exp. I.) Le 3, le 4 et le 5 mars, les températures sont : 40.3, 39.7 et 39.8. Il n'y a pas de réaction locale. Le 4, on retire le fil de soie qui,ensemencé dans du bouillon, donne une culture. Celle-ci inoculée à un lapin (21) le tue en 40 heures.

Le 10 mars, ce chien, qui est tout à fait bien portant, est inoculé de nouveau. Il reçoit sous la peau de la cuisse gauche 1^{re} du sang du chien n° 1, et sous la peau de la cuisse droite, du sang d'un lapin n° 20 qui a succombé au charbon en 26 heures (V. Exp. VI). L'œdème est très peu marqué à gauche, il est très étendu à droite.

Le 11 mars, on fait une prise dans l'œdème de la cuisse droite. Sur trois tubesensemencés, un seul donne une culture qui tue le lapin 27 en 48 heures. Au microscope, cet œdème montrait quelques bâtonnets qui prenaient bien la couleur.

Le	10	11	12	15	29	30	31 mars.
Temp ^{re}	40.3	40.9	41.3	39.0	40.0	40.1	39.5

Les prises faites dans la suite ne montrèrent aucune bactérie au microscope;ensemencées, elles ne donnèrent pas de culture.

Le chien fut sacrifié le 31 mars; on ne trouva aucune lésion à l'autopsie. Le sang et les organesensemencés ne donnèrent aucune culture.

Exp. VI. — Chien n° 6. Adulte, brun foncé rayé de blanc. Poids 6,5^k. Inoculé, le 3 mars à 10 h. 30 du matin, sous la peau de la cuisse gauche, avec de la pulpe de la rate du lapin 14 (chien 4), et, sous la peau de la cuisse droite, avec du sang du même lapin.

Le 4 mars, œdème marqué aux deux cuisses. On fait une prise dans la cuisse droite. L'œdème contient des bâtonnets; de troisensemencements, un seul donne une culture qui tue le lapin (20) en 25-26 heures. L'ensemencement de l'œdème de la cuisse donne une culture qui tue un cobaye en 30 heures. Le sang de ce cobaye est inoculé à un autre cobaye et à un lapin qui meurent, le premier en 30 heures, le second en 28 heures. Une autre culture de l'œdème de la cuisse gauche tue un lapin en 30 heures.

Le 5 mars, quatre préparations faites avec l'œdème de la cuisse droite ne montrent pas de bactéries.

Les préparations faites avec l'œdème de la cuisse gauche contiennent un assez grand nombre de bâtonnets, les uns libres, les autres dans les cellules. L'ensemencement de cet œdème fournit une culture qui tua un lapin en 60 heures.

Le 6 mars, on trouve dans les préparations de l'œdème de la cuisse

droite des leucocytes qui renferment des bâtonnets dégénérés. Cet œdème ne cultivé pas.

Le	3	4	5	6	7	8	10 mars.
Temp ^{re}	39.8	42.0	41.8	41.3	41.3	40.7	39.4

Les œdèmes disparurent et le chien se rétablit.

Exp. VI. — Chien n° 21. Adulte brun bariolé. Poids 44,8^k. Reçoit le 27 avril, à 10 heures du matin, sous la peau, 1^{cc} du sang défibriné du chien 19.

Le 22, il y a de l'œdème au point d'inoculation. Du liquide de l'œdème,ensemencé à 10 heures du matin, donne une culture qui tue le lapin (43) en 72 heures, et le lapin (46) en 74 heures.

Les ensemencements faits plus tard avec l'œdème restèrent stériles.

Le	21	22	23	24	25	26 avril.
Temp ^{re}	39.2	40.3	40.3	40.2	39.7	40.2

Il y a eu un peu de gangrène de la peau au point d'inoculation.

Le 29 avril, l'animal est bien rétabli. On lui injecte, sous la peau de la cuisse du côté opposé à celui où a été faite la première inoculation, 1^{cc} de culture de charbon, ensemencée avec des spores provenant du sang du chien 19.

Les jours suivants, il n'y a pas de réaction locale, et la température est le 29 de 38.8; le 30 de 38.7; le 1^{er} mai de 38.8. On sacrifie le chien le 2 mai, on ne trouve aucune lésion à l'autopsie.

Exp. VII. — Chien n° 7. Adulte gris. Poids 44,4^k. Le 12 mars, à 6 heures du soir, injection intra-veineuse de 1^{cc} de sang défibriné des lapins 10, 24 et 25, morts respectivement en 60, 30 et 36 heures. A la suite de l'inoculation, il y a de l'œdème de la cuisse et un peu de gangrène de la peau. Un ensemencement de l'œdème, fait 40 heures après l'infection, a donné une culture que l'on n'a pas inoculée.

Le sang ensemencé les 13, 14 et 16 mars n'a pas donné de culture.

Le	12	13	14	15	17	18	19	20 mars.
Temp ^{re}	39.8	41.3	40.5	40.6	40.7	39.1	39.1	39.4

L'animal reste bien portant.

Exp. VIII. — Chien n° 8. Vieux, noir, poids 42,4^k. Inoculé comme le précédent. Le 13, œdème au point d'inoculation. Le 13 mars, le sang ensemencé donna une culture qui tua le lapin 32 en 36 heures. Les prises de sang faites dans la suite restèrent stériles.

Le 13, une préparation faite avec l'œdème montre 2 bâtonnets, l'un bien coloré, l'autre pâle. Un peu d'œdème semé dans du bouillon ne donne pas de culture.

Le	12	13	14	15	17 mars.
Temp ^{re}	40.3	40.3	41.5	42.3	40.3

L'animal a de la diarrhée, de l'urine sanglante; il meurt le 18 mars à

1 heure du soir. A l'autopsie, on remarque des ecchymoses sur les poudions et sur le cœur, un épanchement séro-sanguinolent dans le péricarde (300^{cc} environ). Le sang n'est pas coagulé. Le foie est augmenté de volume et hyperémié. La rate est grande, de couleur foncée, et cependant de consistance assez ferme. La vessie est vide et normale. Les reins sont hyperémiés.

Le sang, la rate et le liquide du péricarde sont ensemencés et ne donnent pas de culture.

Exp. IX. — Chien n° 9. Adulte blanc. Poids 7,2^k. Inoculé le 17 mars, à 11 heures du matin, dans la veine saphène, avec 1^{cc} 5 de sang défibriné du lapin 28.

Le	17	18	19	20 mars.
Temp ^{re}	39.7	40.3	42.0	41.7

Du sang pris le 13, 24 heures après l'injection, donne une culture qui tue un cobaye en 30 et 36 heures.

Comme l'animal paraît devoir se rétablir, on le sacrifie, le 20 août, à 3 heures du soir. On trouve à l'autopsie un épanchement dans le péricarde (400^{cc} environ). On ensemence dix tubes de bouillon avec le sang, la pulpe de la rate et le liquide péricardique. Deux tubes ensemencés avec la rate donnent une culture, les autres sont stériles. Une de ces cultures tua le lapin (26) en 30 heures, l'autre le lapin (30) en 21 heures.

Des coupes du foie ne montrèrent pas de bâtonnets.

Exp. X. — Chien n° 10. Adulte, noir. Poids 12,2^k. Inoculé le 22 mars, à 10 heures et demie, dans la veine saphène, avec 15^{cc} de la culture de la rate du chien 9. La température monte de 40.7 à 42.5 le 23 mars. Le chien meurt le 25 mars, à 10 heures du matin, après avoir eu de la diarrhée. A l'autopsie le sang est noir, non coagulé. Le foie est fortement hyperémié, la rate augmentée de volume et mollé, les reins congestionnés.

Le 24, à 10 heures et demie du matin, on fait une prise de sang. Dans une préparation de ce sang on trouve 6 bâtonnets, libres, bien colorés, et beaucoup de leucocytes. Ce sang donne une culture qui tue le lapin (29) en 30 heures.

Le sang recueilli le 25, à l'autopsie, fourmille de bactériidies; de même le foie et la rate sont très riches en bacilles. Tous les ensemencements faits avec le sang et les organes sont féconds. Le sang, directement inoculé à un lapin (31) le tue en 30 heures, deux autres lapins et un cobaye en 30 heures.

Les coupes de la rate montrent des bactériidies en abondance.

Exp. XI. — Chien, n° 11. Adulte brun tacheté, poids 8,7^k. Inoculé dans la veine, avec 18^{cc} de la même culture que le précédent. Température : le 22, 39.9; le 24, 41.7. On le sacrifie le 24 à 11 heures du matin. Rien de remarquable à l'autopsie. Rate résistante, peu foncée; foie hyperhémié.

Le 22 et le 24, on ensemence du sang qui ne donne pas de culture. A l'autopsie on ne trouve pas de bâtonnets dans les organes : neuf ensemencements faits avec la pulpe des organes restent stériles.

Exp. XII. — Chien n° 12. Adulte gris, poids 8,770^k. Reçoit le 24 mars, à 5 heures du soir, dans la veine saphène, 4^{cc} d'un mélange de sang défibriné et de pulpe splénique du chien 11, après séjour de 6 heures à l'étauve. L'animal ne paraît pas malade, et sa température, qui est de 40.1 le 24, tombe à 39.2, 39.2, 39.7 les jours suivants; ce qui n'est pas étonnant puisque la pulpe et le sang injectés n'ont pas donné de culture.

Le 25 et le 26, on ensemence du sang qui ne pousse pas.

Le 29 mars on injecte dans les veines de l'animal, qui paraît bien portant, 20^{cc} de la culture du sang du chien 10. Le 31, tristesse, soif et diarrhée, temp. 41.2; du sang puisé dans une veine à 10 heures du matin donne des cultures.

Le 1^{er} avril, l'animal est très malade, sa température est tombée à 38.0. Il meurt le même jour à 2 heures de l'après-midi. A l'autopsie on trouve la rate molle et augmentée de volume, le sang est épais, presque noir. Dans une préparation du sang, on voit 6 bactériidies, dans une autre 2; dans une préparation de la rate on en trouve 4. Les ensemencements faits avec le sang et la pulpe des organes sont tous féconds. Le sang inoculé à un lapin (34) le tue en 36 heures. (V. Exp. 14.)

Exp. XIII. — Chien n° 13. Agé de 6 mois, jaune. Poids 5,270^k. Inoculé le 25 mars, à 2 heures 30 minutes du soir, dans la veine saphène, avec 2^{cc} d'un mélange de sang défibriné et de pulpe de la rate du chien 10. Les jours suivants il y a de l'œdème au point d'inoculation. Le 27 l'animal est enrhumé.

Le	25	26	27	28 mars.
Temp ^{re}	40.5	41.1	41.5	41.0

On le sacrifie le 28 à 9 heures du matin; la rate n'est pas congestionnée et, au microscope, on ne trouve de bactériidies ni dans le sang ni dans la rate. Sur 8 ensemencements faits avec le sang et la rate, un seul est fécond. Cette culture tue un lapin (32) en 33-39 heures. Dans les coupes des organes on n'a pas trouvé de bacilles.

Exp. XIV. — Chien n° 14. Adulte, jaune, 11,4^k. Inoculé le 29 mars, à 11 heures du matin, dans la veine saphène, avec 25^{cc} d'une culture récente du chien 10: c'est la même culture que celle qui a été injectée le même jour au chien 12. La température, qui était de 39.5 le 29, s'élève à 41,7 le 30, et à 41.8 le 31 mars. Des prises de sang faites le 30 et le 31 sont ensemencées sans résultat. Le 31, on sacrifie l'animal à 2 heures du soir. Rien à noter à l'autopsie: quatre ensemencements faits avec la pulpe de la rate donnent quatre cultures; l'une d'elles, inoculée au lapin 35, le fait mourir en 29-30 heures.

Exp. XV. Chien n° 15. Adulte jaune et noir. Poids 7,1^k. A reçu le 1^{er} avril, à 3 h. 30 du soir, dans la veine saphène, 2^{cc} du mélange défibriné du sang et de la pulpe de la rate du chien 12.

Des prises de sang sont faites le 2, le 3, le 4 et le 5 avril; elles ne donnent aucune culture. L'animal est très malade, il a de la dyspnée.

SUR LA VIRULENCE DE LA BACTÉRIDIE CHARBONNEUSE. 539

Le	1 ^{er}	2	3	4	5	8	9 avril.
Temp ^{re}	40.4	40.1	39.9	41.8	42.2	39.5	39.9.

Le 8 avril, il paraît se rétablir ; on le sacrifie le 10 avril, à 11 heures du matin. On trouve 150^{cc} de liquide dans le péricarde, et un infarctus hémorragique dans la paroi du ventricule gauche. L'examen microscopique ne montre aucune bactéridie dans la pulpe des organes, ni dans les coupes. Le sang et les organes ensemencés ne donnent pas de culture.

Exp. XVI. — Chien n° 16. Vieux, noir, avec des taches blanches. Poids 7,250^k. Inoculé le 4 avril, à 11 heures du matin, dans la veine saphène, avec 5^{cc} d'une culture provenant de spores issues du sang du chien 12. La température monte de 39.4 le 4, à 40.7 le 5. Il y a de l'œdème au point de l'injection. Le 5 avril, une préparation de l'œdème montre beaucoup de bactéridies libres et de nombreux leucocytes qui ne renferment pas de bacilles. L'œdème recueilli le 5 et le 6 donne des cultures.

L'animal succombe le 7 avril, à 5 heures et demie du soir. La rate est augmentée de volume, molle et de couleur foncée. Il y a une péricardite fibrineuse avec épanchement (100^{cc}). Le foie est hyperémié, et on voit de petites ecchymoses dans la musculature du cœur. La sérosité du péricarde est très riche en bactéridies ; le sang et la pulpe de la rate en contiennent aussi beaucoup, moins cependant que le liquide péricardique.

Le sang, inoculé au lapin 33 pesant 1,880^k, le tue en 18-19 heures. Le sang du chien, semé sur gélose, donne des spores ; ces spores, cultivées dans un mélange de sang de chien et de bouillon, fournissent des cultures qui font périr le lapin (36) en 24 heures, le lapin (38) en 49 heures, le lapin (39) en 23 heures, le lapin (50) en 46 heures et le lapin (60) en 40 heures. Une autre culture de ces spores dans de la sérosité péricardique tue le lapin (37) en 60 heures.

Dans les coupes du foie du chien n° 16, on trouve dans l'intérieur des phagocytes (macrophages et microphages) des bacilles dégénérés, pâles et gonflés pour la plupart ; quelques-uns prennent encore bien la matière colorante. Dans certains points les bacilles sont libres, dans d'autres on voit des bacilles englobés et des bacilles libres.

Exp. XVII. — Chien n° 17. Agé d'un an, noir. Poids 8 kilogrammes. Inoculé le 8 avril, à 11 heures du matin, dans la veine saphène, avec 2^{cc} du sang défibriné du chien 16. Le 9 et le 10 on fait des prises de sang qui restent stériles. Les températures sont du 8 au 11 avril : 39.9, 41.8, 40.9, 40.2. Le 11, on sacrifie le chien ; on ne trouve aucune lésion à l'autopsie. Les ensemencements faits avec le sang et les organes restent stériles.

Exp. XVIII. — Chien n° 18. Adulte jauné, poids 8,7^k. Inoculé le 12 avril, à 11 heures du matin, dans la veine saphène, avec 5^{cc} d'une culture du sang du chien 16. Les températures sont : le 12, de 39.4 ; le 14 de 41.2 ; le 15 de 40.2 ; on sacrifie l'animal le 15 ; rien à l'autopsie.

Le sang puisé pendant la vie et après la mort n'a pas donné de culture. Sur cinq ensemencements de sa pulpe splénique, un seul est fécond et tue le

lapin (40) en 44 heures. On ne trouve pas de bactériidies dans les coupes du foie et de la rate.

Exp. XIX. — Chien n° 19. Adulte noir, poids 15,7^k. A reçu le 17 avril, à 11 heures du matin, dans la veine saphène, 8^{cc} d'une culture de charbon, âgée de 24 heures et faite dans un mélange de bouillon et de sang de chien. Cette culture avait étéensemencée avec des spores provenant du sang du chien 9. Le 19, le chien est très triste, il a de la dyspnée.

Le	17	18	19	20 avril.
Temp ^{re}	39.3	41.3	42.2	40.2

Le chien meurt le 21 avril, à 8 heures du matin. A l'autopsie on trouve la rate de couleur foncée, augmentée de volume et molle. Le sang est mal coagulé. Il y a beaucoup de bactériidies dans le sang. Dans une préparation du sang, on trouve trois leucocytes qui renferment des bacilles englobés. Les ensemencements faits avec le sang et la pulpe des organes sont tous féconds. Le sang du chien 19, inoculé à un lapin 41, du poids de 2,120 grammes, le fait périr en 54 heures. Il tue en 24 heures et demie un lapin 42 du poids de 1885 grammes. Une culture sur gélose de spores issues de ce sang tue le lapin 47 en 72 heures. Une culture de la rate, dans du sang de chien réfractaire, tue le lapin 52 en 96 heures.

Exp. XX. — Chien n° 20. Adulte, jaune, poids 14 kilogrammes, a reçu dans les veines, le 21 avril, à 8 heures du matin, 5^{cc} du sang défibriné du chien 19.

Le	21	22	23	24	25	26 avril.
Temp ^{re}	39.9	40.7	41.3	41.6	41.8	40.8

Le 22, il y a de l'œdème au point d'injection. Le sang recueilli le 22, 24 heures après l'inoculation, ne montre pas de bactériidies au microscope, mais il donne une culture qui tue le lapin 44 en 54 heures, et le lapin 49 en 99 heures. Les prises du 23, du 24 et du 25, ensemencées, sont stériles.

L'animal a de la dyspnée, il meurt le 27 avril à sept heures du matin. A l'autopsie, on trouve le foie et la rate hyperémiés, un épanchement séro-sanguinolent (100^{cc}) dans le péricarde, des ecchymoses dans la musculature du cœur. On ne trouve pas de bactériidies au microscope, ni dans le sang, ni dans la rate, ni dans le liquide péricardique. Les ensemencements de la pulpe des organes, du sang et du liquide péricardique, n'ont pas donné de culture. Des coupes du foie et de la rate ne montrent pas de bactériidies.

Exp. XXII. — Chien n° 22. Adulte noir, poids 14,8^k. Reçoit le 29 avril, à 10 heures du matin, dans la veine saphène droite, 2^{cc} d'une culture récente ensemencée avec des spores provenant du sang du chien 19. Cette culture inoculée à un lapin le fait périr en 72 heures.

Il se forme de l'œdème au point d'inoculation, et l'animal est très malade.

Le	29	30 avril	1 ^{er}	2	3	4	5	6	7 mai.
Temp ^{re}	40.7	41.7	41.8	42.1	40.8	40.7	39.6	41.1	39.7

Le 2 mai, on fait des préparations avec l'œdème; elles montrent un grand nombre de leucocytes ayant englobé des bacilles.

Parmi les bactériidies contenues dans les cellules, quelques-unes à peine se colorent; la plupart sont pâles, gonflées, dégénérées, on trouve des leucocytes qui renferment 4 et 6 bâtonnets. Il y a quelques bacilles libres, les uns dégénérés, les autres prenant encore la couleur. Le liquide de l'œdème, inoculé directement au lapin 48, ne lui cause aucun mal; semé, il ne pousse pas.

Les prises de sang du 1 et du 2 mai n'ont pas donné de cultures.

Le 7 mai l'œdème est résorbé. Le 8 mai, le même chien reçoit dans la veine saphène gauche 2^{cc}, et, sous la peau du ventre, 4^{cc} d'une culture récenteensemencée avec des spores provenant du sang du chien 19.

Il se forme sous le ventre, au point d'inoculation, un gros œdème :

Le	8	9	10	12	13 mai.
Temp ^{re}	39.0	39.0	40.3	40.3	40.3

Le 9 et le 10 on fait une prise de sang, qui ne donne pas de culture. Le 10, dans une préparation de l'œdème, on trouve une seule bactériдие dégénérée.

L'œdème ne se résorbe pas et il persiste une tuméfaction, bien que l'animal soit tout à fait rétabli. Cette tuméfaction est causée par un épanchement sanguin. Dans ce kyste hémorragique, on trouve, le 20 mai, trois leucocytes contenant des bacilles. Le contenu de ce kysteensemencé ne pousse pas.

Le 17 mai, à 10 heures du matin, on injecte dans une veine saphène de ce chien 40^{cc} d'une émulsion fine et stérile de charbon de bois (faite en suspendant 5 grammes de charbon extrêmement ténu dans 100 grammes d'eau et passant sur un linge).

Le 19 mai, on lui injecte dans les veines 5^{cc} d'une culture récenteensemencée avec des spores provenant du chien n° 16. Cette injection ne paraît produire que peu d'effet sur l'animal.

Le	17	18	19	20	21 mai.
Temp ^{re}	39.8	39.9	40.2	40.5	39.5

On sacrifie le chien le 21 mai à 3 heures du soir. On ne trouve aucune lésion. Les ensemencements faits avec la pulpe des organes ne poussent pas. Des coupes du foie montrent des leucocytes remplis de grains de charbon, mais pas de bactériidies.

Exp. XXIII. — Chien n° 23. Un an, gris. Poids 8,3^k. Reçoit le 8 mai dans la veine saphène, à 10 heures du matin, 2^{cc} de la culture qui a été injectée, à la même date, au chien 22. Cette culture a tué le lapin 52 en 96 heures.

Il se produit de l'œdème au point d'injection.

Le 9 mai, le sang et l'œdèmeensemencés ne donnèrent pas de culture.

Le 10 mai, on trouve au microscope deux bactériidies libres dans une préparation de l'œdème. Cet œdème donne une culture qui tue le lapin 48 en 74 heures. Les ensemencements faits plus tard avec l'œdème restèrent stériles.

Le 10 mai, on retira d'une veine plusieurs centimètres cubes de sang qui furent injectés sous la peau d'un lapin (53), qui resta en bonne santé.

Les températures du chien montrent qu'il a très peu souffert de l'inoculation.

Le	8	9	10 mai.
Temp ^{re}	40.1	40.0	40.0

Le 1^{er} juin, on injecte à 2 heures du soir, dans les veines du même chien, 3^{cc} d'une culture récente de charbon,ensemencée avec des spores provenant du sang du chien 16. En même temps, on lui inocule 1^{cc} de la même culture sous la peau. L'animal n'est pas malade après l'inoculation. Il est sacrifié le 2 juin à 8 heures du matin. Avec la pulpe du foie et de la rate on fait 8 ensemencements qui ne donnent pas de culture. Au point d'inoculation, sous la peau, il n'y a pas d'œdème, le tissu cellulaireensemencé ne cultive pas. Des coupes du foie ne montrent aucun microbe.

Exp. XXIV. — Chien n° 24. Adulte, jaune. Poids 17,75^k. Le 16 mai, à 10 heures du matin, ce chien, très vigoureux, reçoit dans une veine saphène 50^{cc} d'une émulsion stérilisée de charbon de bois (50 grammes dans 100^{cc} de solution de sel marin à 1/2 0/0). Le 17 mai, on injecte dans une veine 2^{cc} de culture.

Le	16	17	18	19	20	21 mai.
Temp ^{re}	39.9	39.8	40.7	40.5	40.5	40.5

L'animal a de la diarrhée, il meurt le 22 mai à 10 heures du matin; à l'autopsie, on trouve deux ecchymoses assez étendues dans les muscles abdominaux. Le foie et la rate sont augmentés de volume et hyperémiés. Dans le péricarde, il y a un épanchement sanguinolent de 100^{cc} environ; nombreuses ecchymoses dans les muscles du cœur. La partie supérieure de l'intestin contient un liquide sanglant, la muqueuse est enflammée. Au microscope, on trouve quelques bactériidies dans ce liquide du péricarde, mais pas dans le sang ni dans la pulpe des organes.

Cependant, le foie et la rate ont donné des cultures ainsi que le liquide du péricarde.

Le sang injecté directement à un lapin 53 l'a tué en 120 heures. Plusieurs centimètres cubes de sangensemencés ne donnèrent pas de culture.

Le liquide du péricarde fit périr le lapin 53 en 50 heures et un cobaye en 36 heures. De la pulpe de la rate inoculée à un lapin 54 le tua en 60 heures. La culture de cette rate fit périr le lapin 59 en 48 heures.

INSTITUT PASTEUR

Personnes traitées mortes de la rage.

M^{me} DUBOIS, née REPERRE, Joséphine, 70 ans, de Locquignol (Nord).

Mordue le 15 juin 1890, par un chien reconnu enragé, d'après les renseignements recueillis et à l'autopsie, par M. Moutier, médecin-vétérinaire au Quesnoy.

M^{me} Dubois a, sur la partie supérieure centrale du crâne, une morsure pénétrante, ayant beaucoup saigné, et deux autres morsures assez pénétrantes, ayant saigné, à la main gauche. Les blessures ont été cautérisées à la pierre infernale, deux heures et demie après l'accident.

M^{me} Dubois a été mise en traitement le 17 juin ; elle a quitté l'Institut le 6 juillet.

Les premiers symptômes de la rage se sont manifestés le 10 juillet (4 jours seulement après la fin du traitement), et la mort est survenue le 14 juillet.

Trois autres personnes, mordues par le même chien, et traitées également à l'Institut Pasteur, sont en bonne santé.

DÉGEAN, Albert, 31 ans, de Sainte-Livrade (Lot-et-Garonne). Mordu le 3 juin 1890, par un chien mis en observation à partir de cette date, et mort spontanément le 8 juin, sans que les vétérinaires aient pu se prononcer sur sa maladie.

Ce chien avait été mordu quelque temps avant par un chien errant ; devenu agressif, il a mordu une autre personne, un chien, des poules et a tué une oie.

Dégean présente cinq morsures à la main gauche : quatre, ayant beaucoup saigné, mesurant toutes l'étendue d'une grosse lentille, à la partie médiane de la face dorsale de la main ; la cinquième, ayant également beaucoup saigné, de l'étendue d'une pièce de 20 centimes, à la face palmaire de la même main.

Ces blessures ont été cautérisées au fer rouge par un médecin, une heure après l'accident.

Dégean a été mis en traitement le 7 juin, il a quitté l'Institut le 26 juin. Les premiers symptômes de la rage se sont manifestés le 2 août, et la mort est survenue le 6 août. (Renseignements fournis par M. le Dr Gaumeton, de Sainte-Livrade.)

La personne mordue par le même chien que Dégean, et traitée à l'Institut Pasteur, est en bonne santé.

INSTITUT PASTEUR

STATISTIQUE ¹ DU TRAITEMENT PRÉVENTIF DE LA RAGE. — JUILLET 1890.

	A		B		C	
Morsures à la tête { simples	»	»	3	8	»	1
et à la figure { multiples	1	1	5	»	1	»
Cautérisations efficaces	»	»	»	»	»	»
— inefficaces	»	»	1	»	1	»
Pas de cautérisation	1	»	7	»	»	»
Morsures aux mains { simples	7	20	12	44	2	5
— multiples	13	»	32	»	3	»
Cautérisations efficaces	»	»	2	»	»	»
— inefficaces	10	»	30	»	3	»
Pas de cautérisation	10	»	12	»	2	»
Morsures aux mem- { simples	7	13	12	35	4	12
bres et au tronc { multiples	6	»	23	»	8	»
Cautérisations efficaces	»	»	2	»	2	»
— inefficaces	6	»	24	»	10	»
Pas de cautérisation	7	»	9	»	1	»
Habits déchirés	9	»	25	»	11	»
Morsures à nu	4	»	10	»	1	»
Morsures multiples en divers points du corps	»	3 3	»	5 5	2	2
Cautérisations efficaces	»	»	»	»	1	»
— inefficaces	»	»	2	»	»	»
Pas de cautérisation	3	»	3	»	1	»
Habits déchirés	»	»	4	»	»	»
Morsure à nu	3	»	5	»	2	»
Totaux. { Français et Algériens	30	37	63	92	20	20
Etrangers	7	»	29	»	»	»
	A		B		C	
TOTAL GÉNÉRAL						149

1. La colonne A comprend les personnes mordues par des animaux dont la rage est reconnue expérimentalement; la colonne B celles mordues par des animaux reconnus enragés à l'examen vétérinaire; la colonne C les personnes mordues par des animaux suspects de rage.

Les animaux mordeurs ont été : chiens, 131 fois; chats, 13 fois; chevaux, 2 fois; porcs, 2 fois; mule, 1 fois.

Le Gérant : G. MASSON.

Sceaux. — Imprimerie Charaire et fils.